HAL
open science

Mesure, caractérisation et prédiction de la stabilité des médicaments

Camille Merienne

To cite this version:

Camille Merienne. Mesure, caractérisation et prédiction de la stabilité des médicaments. Sciences pharmaceutiques. Université de Lyon, 2020. Français. NNT : 2020LYSE1330 . tel-03617623

HAL Id: tel-03617623

https://theses.hal.science/tel-03617623

Submitted on 23 Mar 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N°d'ordre NNT : 2020LYSE1330

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale ED 205
Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences Santé

Spécialité de doctorat : Sciences du médicament, physico-chimie et ingénierie appliquées à la santé

Soutenue publiquement le 11/12/2020
par: **Camille MERIENNE**

MESURE, CARACTÉRISATION ET PRÉDICTION DE LA STABILITÉ DES MÉDICAMENTS

Devant le jury composé de :

Sylvie Crauste-Manciet	Professeure des Universités Praticien Hospitalier	CHU de Bordeaux	Rapporteure
Pascal Odou	Professeur des Universités Praticien Hospitalier	CHU de Lille	Rapporteur
Marylène Viana	Professeure des Universités	Université de Limoges	Rapporteure
Stéphanie Briançon	Professeure des Universités	UCBL	Examinatrice
Valérie Sautou	Professeure des Universités Praticien Hospitalier	CHU de Clermont Ferrand	Examinatrice
Fabrice Pirot	Professeur des Universités Praticien Hospitalier	Hospices Civils de Lyon	Directeur
Jean Vigneron	Praticien Hospitalier	CHU de Nancy	Co-directeur

Université Claude Bernard – LYON 1

Administrateur provisoire de l'Université	M. Frédéric FLEURY
Président du Conseil Académique	M. Hamda BEN HADID
Vice-Président du Conseil d'Administration	M. Didier REVEL
Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. Philippe CHEVALLIER
Vice-Président de la Commission de Recherche	M. Jean-François MORNEX
Directeur Général des Services	M. Pierre ROLLAND

COMPOSANTES SANTE

Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directrice : Mme Anne-Marie SCHOTT
Faculté d'Odontologie	Doyenne : Mme Dominique SEUX
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon Sud - Charles Mérieux	Doyenne : Mme Carole BURILLON
Faculté de Médecine Lyon-Est	Doyen : M. Gilles RODE
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation (ISTR)	Directeur : M. Xavier PERROT
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISBP)	Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA

COMPOSANTES & DEPARTEMENTS DE SCIENCES & TECHNOLOGIE

Département Génie Electrique et des Procédés (GEP)	Directrice : Mme Rosaria FERRIGNO
Département Informatique	Directeur : M. Behzad SHARIAT
Département Mécanique	Directeur M. Marc BUFFAT
Ecole Supérieure de Chimie, Physique, Electronique (CPE Lyon)	Directeur : Gérard PIGNAULT
Institut de Science Financière et d'Assurances (ISFA)	Directeur : M. Nicolas LEBOISNE
Institut National du Professorat et de l'Education	Administrateur Provisoire : M. Pierre CHAREYRON
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. Christophe VITON
Observatoire de Lyon	Directrice : Mme Isabelle DANIEL
Polytechnique Lyon	Directeur : Emmanuel PERRIN
UFR Biosciences	Administratrice provisoire : Mme Kathrin GIESELER
UFR des Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)	Directeur : M. Yannick VANPOULLE
UFR Faculté des Sciences	Directeur : M. Bruno ANDRIOLETTI

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury

Professeur Sylvie Crauste-Manciet, merci à vous de me faire l'honneur d'accepter de juger ce travail, soyez assurée de ma sincère gratitude.

Professeur Marylène Viana, merci également à vous de me faire l'honneur d'accepter de juger ce travail, veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance.

Professeur Pascal Odou, veuillez trouver ici un témoignage de ma gratitude et de ma reconnaissance pour l'honneur que vous me faites d'accepter de juger ce travail.

Professeur Stéphanie Briançon, je vous remercie sincèrement d'accepter de me faire l'honneur de juger ce travail.

Professeur Valérie Sautou, merci à vous pour le temps consacré à la maturation de ce travail lors des comités de suivi et pour votre acceptation à juger ce travail.

Docteur Jean Vigneron, un grand merci à vous pour ce co-encadrement, vos conseils méthodologiques et vos remarques ont permis de faire murir ce travail.

Fabrice Pirot, merci de m'avoir confié la réalisation ce passionnant travail de recherche. Tes conseils au quotidien me sont précieux, et m'aident à améliorer mon travail dans notre unité FRIPHARM.

À mes collègues

Aux membres de l'équipe FRIPHARM, merci à votre aide et toutes vos contributions, manips, remarques techniques et méthodologiques. Ce travail vous est à tous dédié.

À toute l'équipe de la PUI du GHC, merci pour votre soutien et vos conseils.

REMERCIEMENTS

À mes amis et ma famille

Aux amis lyonnais, que de belles rencontres et d'aventures pendant ces trois années à vos côtés.

Aux amis toulousains et bordelais, en souvenir du mémorable internat que nous avons passé dans la magnifique région du sud-ouest, et à vos mioches respectifs qui nous ont rejoint depuis.

Aux amis rennais, qui (re)deviennent tous petit à petit brestois, à nos souvenirs de Rennes 1 puis des différentes retrouvailles d'EVG, mariages, baptêmes et autres Bar Mitzvah

Et aux éternels amis de Saint-Malo, que l'on retrouve toujours avec le même plaisir et la même folie !

À ma famille, merci à tous d'être là, super sympa !

À ma Pauline, et à Alice, merci à vous deux de m'avoir aidé à réaliser ce travail, Pauline par ton soutien, tes relectures et ta gentillesse, Alice en étant sympa et en dormant bien.

REMERCIEMENTS

À Alice,

Même si je doute qu’elle saisisse encore toutes les subtilités de ce travail, pour l’instant.

TABLE DES MATIÈRES

1. Introduction 26

CHAPITRE I

1. Introduction à la modélisation de la cinétique de la dégradation des médicaments. 30

2. Concepts cinétiques communs aux phases homogènes et hétérogènes 34

2.1 Introduction 34

2.2 Vitesse d'une réaction 34

2.3 Avancement d'une réaction 35

2.4 Les mécanismes réactionnels et leur modélisation 36

3. Cinétique de dégradation chimique en phase homogène 37

3.1 Introduction 37

3.2 Réaction d'ordre 0 38

3.3 Réaction d'ordre 1 ou de « pseudo » ordre 1 39

3.4 Cinétique chimique d'ordre 2 ou d'ordres supérieurs 40

3.5 Équation générale des modèles basés sur les ordres réactionnels et représentation graphique 42

4. Cinétique de dégradation chimique en phase hétérogène. 44

4.1 Introduction 44

4.2 Réactions d'ordre 45

4.3 Réactions de nucléation 46

4.3.1 Phénomène de nucléation 47

4.3.2 Croissance du nucléus. 51

4.4 Réactions de diffusion 65

4.4.1 Introduction 65

4.4.2 Diffusion sur 1 dimension – Loi parabolique 66

4.4.3 Diffusion sur 2 dimensions 68

4.4.4 Diffusion 3D – Modèle de Jander 68

4.4.5 Synthèse des modèles de diffusion 71

4.5 Modèles de réactions par contraction géométrique 73

4.5.1 Mécanismes réactionnels et modélisations des contractions géométriques 74

4.6 Conclusion : modélisation cinétique en phase hétérogène 80

5. Effet de la température : la loi d'Arrhenius 82

5.1 Méthode isotherme 83

5.2 Méthode non isotherme 83

6. Influence de l'eau et modélisation du paramètre d'humidité 85

6.1 Introduction 85

6.2 Humidité en facteur 86

6.3 Humidité en puissance 87

6.4 Conclusion 89

7. Discussion et conclusion 89

CHAPITRE II

1. Introduction 93

2. Approche prédictive totale : chimie computationnelle. 94

TABLE DES MATIÈRES

2.1 Principe 94

2.2 Thermodynamique 95

2.3 Méthodes « *ab initio* » 97

2.4 Exemples d'application : hydrolyse de la Cefradine 99

2.5 Approche prédictive totale : optimisation de la stabilité d'une formulation d'amoxicilline injectable forte dose 102

2.5.1 Contexte et objectifs 102

2.5.2 Matériel et méthode 103

2.5.3 Résultats 104

2.5.4 Conclusion – Discussion 105

3. Améliorer la stabilité d'une préparation d'amoxicilline en diffuseur 106

3.1 Contexte et objectif 106

3.2 Amélioration de la stabilité d'une solution d'amoxicilline forte dose. 107

3.2.1 Développement et validation d'une méthode de dosage indicatrice de stabilité 107

3.3 Développement d'une formulation 114

3.4 Formulation amoxicilline 50 mg/mL : état des lieux. 115

3.4.1 Contexte et objectif 115

3.4.2 Matériel et méthode 115

3.4.3 Résultats 115

3.4.4 Discussion et conclusion 117

3.5 Recherche d'un conditionnement adapté 117

3.6 Recherche d'un pH favorable 118

3.6.1 Contexte et objectif 118

3.6.2 Matériel et Méthode 120

3.6.3 Résultats 120

3.6.4 Discussion et conclusion 122

3.7 Recherche d'un inhibiteur de cristallisation 123

3.7.1 Contexte et objectif 123

3.7.2 Matériel et méthode 125

3.7.3 Résultats 126

3.7.4 Discussion et conclusion 131

3.8 Choix de la formulation 132

4. Discussion et conclusion 134

CHAPITRE III

1. Introduction 138

2. Approche semi-prédictive : Étude Semi-Prédictive Accélérée (ESPA) 139

2.1 Principe 139

2.2 Design d'étude 140

2.3 Choix du modèle 141

2.3.1 Les modèles cinétiques 142

2.3.2 Choisir le meilleur modèle. 146

2.4 Extrapolation 148

3. Mesure, analyse et prédiction de la stabilité d'une forme orale d'amoxicilline par approche prédictive accélérée et descripteurs moléculaires intégrés 149

3.1 Contexte général et objectif spécifique de la publication 149

3.2 Matériel et Méthode 151

3.3 Résultats 153

3.4 Discussion et conclusion 157

4. Les préparations hospitalières de recours nécessitent une prédiction rapide de leur stabilité : application à la fabrication d'une formulation de prednisone orale. 170

4.1 Introduction 170

4.2 Matériel et méthode 173

4.3 Résultats 175

4.4 Conclusion 179

5. Discussion et conclusion 214

6. Conclusions et perspectives 219

INDEX DES FIGURES

Figure 1a et 1b: vitesse des réactions d'ordre selon l'avancement α et avancement de la réaction en fonction du temps selon l'équation éq. 22. Δ réaction d'ordre 0 (n = 0); ○ réaction d'ordre 1 (n = 1) ; □ réaction d'ordre 2 (n = 2) ; ◊ réaction d'ordre 3 (n = 3). 43

Figure 2a et 2b : représentation graphique des vitesses des réactions de nucléation en puissance selon l'avancement α et avancement de la réaction en fonction du temps selon l'équation éq. 44. Avec Δ pour n = 1 ; ○ pour n = 2 et □ pour n = 3. 56

Figure 3a et 3b : représentation graphique des vitesses des réactions de nucléation d'Avrami-Erofeyev selon l'avancement α et avancement de la réaction en fonction du temps selon l'équation éq. 51. Avec ○ pour n = 3 ; Δ pour n = 5; et □ pour n = 7..... 60

Figure 4a et 4b: représentation graphique des vitesses des réactions de nucléation de Prout-Tompkins selon l'avancement α et avancement de la réaction en fonction du temps selon l'équation éq. 60..... 64

Figure 5a et 5b : représentation graphique des vitesses des réactions modulées par un phénomène de diffusion selon l'avancement α et avancement de la réaction en fonction du temps selon l'équation éq. 73. Avec ○ pour une diffusion sur 1 dimension et Δ pour une diffusion sur 3 dimensions. 72

Figure 6: coupe circulaire d'une structure cylindrique à t = 0 (rayon = a_0), puis après un temps t (rayon = a). La quantité de matière consommée est proportionnelle à kt. 75

Figure 7a et 7b : représentation graphique des vitesses des réactions de contraction géométrique selon l'avancement α et avancement de la réaction en fonction du temps selon l'équation éq. 84. Avec ○ n = 1 dimension et Δ pour n = 3 dimensions. 79

Figure 8 : variation de l'enthalpie libre d'une voie réactionnelle 96

Figure 9: voies d'hydrolyse favorables ou non de la Cefradine (ΔG en KJ/mol). SI ΔG < 0 la voie d'hydrolyse est favorable. Si ΔG > 0, la voie est défavorable. D'après Zhang et Al..... 100

Figure 10 : variations d'enthalpies libres pour chaque voie réactionnelle. A-/AH : Cefradine neutre ou base, TS : Transition State, IM : InterMediates, RC : Reactants Complexes. D'après Zhang et Al..... 101

INDEX DES FIGURES

Figure 11: représentation schématique des voies de dégradation de l'amoxicilline. 104

Figure 12 : représentation 3D de la voie de dégradation 5 105

Figure 13 : évolution du pourcentage de la concentration de l'amoxicilline en fonction du temps. La ligne n pointillés représente le seuil d'acceptation (90 %)..... 116

Figure 14 : voies de dégradation de l'amoxicilline en conditions environnementales, d'après Nägele et Al. [42]..... 119

Figure 15 : constante de dégradation cinétique k (min^{-1}) en fonction du pH et de la température (°C), d'après Wang et Al. 119

Figure 16 : stabilité de l'amoxicilline 12 mg/mL à 25 °C et pH 8,75, en base logarithmique. . 121

Figure 17 : stabilité de l'amoxicilline 12 mg/mL à 25 °C et 5 °C, à pH 6,3 ; 6,75 et 7,2 (pourcentage de concentration en base Log)..... 122

Figure 18 : solubilité de l'amoxicilline en fonction du pH à 4 °C (a) et 37 °C (b), d'après Feng et Al. [48]. 123

Figure 19 : cristallurie macroscopique et microscopique, d'après Hentzien et Al. 124

Figure 20 : évolution des concentrations d'amoxicilline (mg/mL) à pH = 6,5 aux temps d'analyse définis et après centrifugation. 126

Figure 21 : aspect macroscopique des solutions d'amoxicilline à 48 heures, pH 6,5 et température 25 °C. Les solutions à 15 ; 20 ; 25 et 30 mg/mL présentent une précipitation macroscopique. 127

Figure 22 : imagerie de cristaux d'amoxicilline au microscope optique (10x10)..... 130

Figure 23 : répartition des formes de l'amoxicilline en fonction du pH et représentation de sa forme zwitterion..... 132

Figure 24 : profils des courbes d'avancement de la dégradation alfa en fonction du temps pour les principaux modèles : Ordre 0, Ordre 1, Nucléation en puissance, Modèle JMAEK (Avrami-

Erofeyev), Contraction, Diffusion 1D et 3D, d'après Scrivens, Clancy et Gerst : « Theory and fundamentals of accelerated predictive stability studies », Elsevier 2018. [59]. 144

Figure 25 : courbes obtenues après lissage du paramètre de temps par un exposant N_2 comme présenté équation éq. 96, d'après Scrivens, Clancy et Gerst : « Theory and fundamentals of accelerated predictive stability studies », Elsevier 2018. [59]. 145

Figure 26: profil de dégradation de la formulation d'amoxicilline 5 mg gélule réalisée à partir d'un sel d'amoxicilline sodique conservée à (□) 25 °C / 60 % HR; (○) 60 °C / 5 % HR, (■) 25 °C / 80 % HR; et (▲) 40 °C / 75 % HR. Chaque point est la moyenne ± écart type de N = 5 mesures. 154

Figure 27: profil de dégradation de la formulation d'amoxicilline 5 mg gélule réalisée à partir d'amoxicilline trihydraté conservée à (□) 25 °C / 60 % HR; (○) 60 °C / 5 % HR, (■) 25 °C / 80 % HR; et (▲) 40 °C / 75 % HR. Chaque point est la moyenne ± écart type de N = 5 mesures.... 154

Figure 28 : profils cinétiques de dégradation de l'amoxicilline prédits pour la formulation d'amoxicilline 5 mg gélules fabriquées à partir d'AS. Le modèle le mieux corrélé aux données expérimentales a été choisi et extrapolé dans les conditions environnementales recommandées par la CIH : (□) 25 °C / 60 % HR; (○) 30 °C / 65 % HR; et (Δ) 40 °C / 75 % HR. Les nuances de gris colorent les Aires Sous la Courbe (ASC) de chaque condition. Le gris foncé colore l'ASC de la condition 40 °C / 75 % HR, le gris intermédiaire l'ASC de 30 ° C / 65 % HR et le gris clair l'ASC de 25 °C / 60 % HR. 155

Figure 29 : profils cinétiques de dégradation de l'amoxicilline prédits pour la formulation d'amoxicilline 5 mg gélules fabriquées à partir d'ATH. Le modèle le mieux corrélé aux données expérimentales a été choisi et extrapolé dans les conditions environnementales recommandées par la CIH : (□) 25 °C / 60 % HR; (○) 30 °C / 65 % HR; et (Δ) 40 °C / 75 % HR. Les nuances de gris colorent les Aires Sous la Courbe (ASC) de chaque condition. Le gris foncé colore l'ASC de la condition 40 °C / 75 % HR, le gris intermédiaire l'ASC de 30 ° C / 65 % HR et le gris clair l'ASC de 25 °C / 60 % HR. 156

Figure 30 : agrandissement des régions spectrales situées entre 1800 cm^{-1} et 1500 cm^{-1}. 175

Figure 31 : profil de dégradation des gélules de prednisone 1-mg - CMC conservées à (□) 25 °C / 60 % HR et (■) 40 °C / 75 % HR. Chaque point est la moyenne ± écart type de N = 10 mesures. 176

Figure 32 : profil de dégradation des gélules de prednisone 5-mg - CMC conservées à (□) 25 °C / 60 % HR et (■) 40 °C / 75 % HR. Chaque point est la moyenne ± écart type de N = 10 mesures. 177

Figure 33 : profils cinétiques de dégradation des gélules de prednisone 1-mg. Le modèle le mieux corrélé aux données expérimentales a été choisi et extrapolé dans les conditions environnementales recommandées par la CIH : (□) 25 °C / 60 % HR; (◪) 30 °C / 65 % HR; et (■) 40 °C / 75 % HR. Les nuances de gris colorent les Aires Sous la Courbe (ASC) de chaque condition. Le gris foncé colore l'ASC de la condition 40 °C / 75 % HR, le gris intermédiaire l'ASC de 30 ° C / 65 % HR et le gris clair l'ASC de 25 °C / 60 % HR. 177

Figure 34: profils cinétiques de dégradation des gélules de prednisone 5-mg. Le modèle le mieux corrélé aux données expérimentales a été choisi et extrapolé dans les conditions environnementales recommandées par la CIH : (□) 25 °C / 60 % HR; (◪) 30 °C / 65 % HR; et (■) 40 °C / 75 % HR. Les nuances de gris colorent les Aires Sous la Courbe (ASC) de chaque condition. Le gris foncé colore l'ASC de la condition 40 °C / 75 % HR, le gris intermédiaire l'ASC de 30 ° C / 65 % HR et le gris clair l'ASC de 25 °C / 60 % HR. 178

INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1 : description et classification des mécanismes d'instabilité..... 27

Tableau 2 : vitesses de nucléations et nombre de *nuclei* à temps défini pour les principales lois de cinétique de nucléation, d'après A.K. Galwey et M.E. Brown [11]. 51

Tableau 3: Loi de nucléation selon "n" de l'équation d'Avrami-Erofeyev. 59

Tableau 4: principaux modèles de diffusion. 71

Tableau 5 : dimension de la réaction selon la valeur du paramètre « n »..... 78

Tableau 6: Modélisation mathématique des phénomènes réactionnels en phase solide (formes différentielles des modèles de réaction$\boldsymbol{d}(\boldsymbol{\alpha})\boldsymbol{d}(\mathbf{t})$) et formes intégrées pour chaque type de réaction selon k et α. 81

Tableau 7 : synthèse des équations d'avancement de réaction selon les modèles cinétiques en phase homogène et hétérogène. 91

Tableau 8 : vitesses d'hydrolyses expérimentales de la cefradine (1/s) à 298,15 K comparées aux vitesses prédites. D'après Zhang et Al. 101

Tableau 9 : paramètres chromatographiques appliqués. 108

Tableau 10 : protocole de validation de la méthode analytique. 110

Tableau 11 : chromatogrammes des dégradations forcées 112

Tableau 12 : paramètres de validation de la méthode analytique 114

Tableau 13 : résultats de l'étude de stabilité de l'amoxicilline 50 g/L à 25 °C. Résultats exprimés en pourcentage de molécule intacte restant moyen (%C(t)/C(0)). 116

Tableau 14 : résultats étude de stabilité AMX 12 mg/mL à 25 °C à pH 8,75. Résultats exprimés en pourcentage par rapport à H0 (N = 1). 120

Tableau 15 : résultats étude de stabilité AMX 12 mg/mL à 25 °C et 5 °C, à pH 6,3; 6,75 et 7,2. Résultats exprimés en pourcentage par rapport à H0 (N = 1). 121

INDEX DES TABLEAUX

Tableau 16 : évolution des concentrations (mg/mL) de chaque solution (N = 1) aux temps définis (heures). 126

Tableau 17 : chromatogramme des solutions d'amoxicilline 25 mg/mL à pH 6,2 immédiatement après fabrication et après 88 heures à 25 °C. 128

Tableau 18 : concentrations en amoxicilline mesurées (mg/mL) après 24 heures au réfrigérateur, N = 3 solutions. Moyenne et pourcentage de perte par rapport à la concentration théorique. 129

Tableau 19 : résultat des essais de solubilisation et inhibition de la cristallisation de l'amoxicilline en solution (20 mg/mL) à pH 6,5 et 7,2. 131

Tableau 20 : plan d'expérience en losange 141

Tableau 21: modélisation mathématique des phénomènes réactionnels en fonction de $\boldsymbol{d}(\boldsymbol{\alpha})\boldsymbol{d}(\mathbf{t})$, kT, H et t, et de g(α) la forme intégrale de $\boldsymbol{d}(\boldsymbol{\alpha})\boldsymbol{d}(\mathbf{t})$ pour un t compris entre 0 et +∞. 143

Tableau 22 représentations mathématiques simplifiées des principaux modèles cinétiques et correspondances. K1, K2, K3, N_1, N_2 : constantes, t : temps, H : paramètre d'humidité, α(t) : avancement de la réaction. 146

Tableau 23: formulations des gélules d'amoxicilline 5 mg AS ou ATH. 151

Tableau 24 : analyse de faisabilité et de risque des gélules de prednisone 5-mg et 1-mg selon les bonnes pratiques de préparation 2019 171

Tableau 25 : formulations des gélules de prednisone à 1-mg et 5-mg. 173

Tableau 26 : descripteurs moléculaires, propriétés physiques, chimiques et mécanismes de dégradation en phase solide des 3 PA étudiés. 215

Tableau 27 : conditions de stockage et temps d'analyse pour un PA dont la cible de conservation serait la température ambiante. 217

INDEX DES FORMULES

Eq.1 $\frac{-d[M]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$ P35

Eq.2 $\alpha(t) = \frac{\%\ \text{Dégradation}(t) - \%\ \text{Dégradation}(0)}{\%\ \text{Dégradation}(\text{total}) - \%\ \text{Dégradation}(0)}$ P35

Eq.3 $\alpha(t) = \frac{\%\ \text{Dégradation}(t)}{\%\ \text{Dégradation}(\text{total})} = \frac{\text{Quantité dégradée}}{\text{Quantité initiale}}$ P36

Eq.4 $\alpha(t) = \frac{m(0)-m(t)}{m(0)-m(\infty)}$ P36

Eq.5 $\alpha(t) = \frac{m(0)-m(t)}{m(0)}$ P36

Eq.6 $\int_0^t \frac{d\alpha}{dt} = f(\alpha)$ P36

Eq.7 $\frac{d[X]}{dt} = \frac{-d[A]}{dt} = k_0[A]^p[B]^q[C]^r[D]^s$ P38

Eq.8 $\frac{d\alpha}{dt} = k_0$ P39

Eq.9 $\alpha(t) = k_0 t$ P39

Eq.10 $\frac{d[X]}{dt} = \frac{-d[A]}{dt} = k_0[A]^p$ P39

Eq.11 $\frac{d[X]}{dt} = k_0([A]_0 - [X])$ P39

Eq.12 $\frac{dX}{dt} = k_0(1-\alpha)$ P40

Eq.13 $-\ln(1-\alpha) = k_0 t$ P40

Eq.14 $[A](t) = [A]_0 \exp(-k_0 t)$ P40

INDEX DES FORMULES

Eq.15 $\frac{d[X]}{dt} = k_0[A]^p[B]^q$ P41

Eq.16 $\frac{d[X]}{dt} = k_0([A]_0 - [X])^1([B]_0 - [X])^1$ P41

Eq.17 $\frac{d[X]}{dt} = k_0([A]_0 - [X])^2([B]_0 - [X])^1$ P41

Eq.18 $\frac{d\alpha}{dt} = k_0(1 - \alpha)^2$ P41

Eq.19 $\frac{d\alpha}{dt} = k_0(1 - \alpha)^3$ P41

Eq.20 $\left[\frac{1}{1-\alpha}\right] - 1 = k_0 t$ P41

Eq.21 $\frac{1}{2}\left[\frac{1}{(1-\alpha)^2} - 1\right] = k_0 t$ P41

Eq.22 $\frac{d\alpha}{dt} = k_1(Sp - N)$ P42

Eq.23 $\frac{dN}{dt} = k_1(N_0 - N(t))$ P47

Eq.24 $N = Sp(1 - e^{-k_1 t})$ P47

Eq.25 $\frac{dN}{dt} = \partial(t)dt$ P48

Eq.26 $N = N_0$ P48

Eq.27 $\frac{dN}{dt} = k_n N_0$ P48

Eq.28 $N(t) = k_n N_0 t$ P48

INDEX DES FORMULES

Eq.29 $\frac{dn_t'}{dt} = C(N' - n'_t)exp^{\frac{-\Delta G'_n}{RT}}$ P49

Eq.30 $N' - n'_t = exp^{(-C_t exp^{\left(\frac{-\Delta G'_n}{RT}\right)})}$ P49

Eq.31 $\Delta G_n^m = \Delta G_n^0 + \beta n_t$ P49

Eq.32 $n_t = N_0 B\, ln(t) + D$ P49

Eq. 33 $\frac{dN}{dt} = C\eta t^{\eta-1}$ P50

Eq.34 $C = \frac{N_0(k_i)^\eta}{\eta!}$ P51

Eq.35 $N(t) = \frac{N_0(k_i t)^\eta}{\eta!} = C.t^\eta$ P51

Eq.36 $\frac{dr}{dt} = k_g(t - t_0)$ P52

Eq.37 $v(t, t_0) = \sigma[r(t, t_0)]^\lambda$ P52

Eq.38 $r(t, t_0) = \int_{t0}^{t} F(t)dt$ P52

Eq.39 $v(t, t_0) = \sigma\left[\int_{t0}^{t} F(t)dt\right]^\lambda$ P53

Eq.40 $vv(t, t_0) = \sigma\left(\iiint_{t_0}^{t} k'_g(x)k''_g(y)k'''_g(z)dxdydz\right)$ P53

Eq.41 $\alpha = \frac{V(t)}{Vf}$ P53

Eq.42 $V(t) = \left(\frac{2\pi N}{3}\right)(k_g t)^\lambda$ P54

INDEX DES FORMULES

Eq.43 $\alpha^{\frac{1}{n}} = kt$ P54

Eq.44 $\alpha = kt^{n}$ P55

Eq.45 $\frac{-dN_1}{dt} = dN + dN_2$ P57

Eq.46 $N_1(t) = N_0 - N(t) - N_2(t)$ P58

Eq.47 $d\alpha = d\alpha'(1-\alpha)$ P58

Eq.48 $-\ln(1-\alpha) = \alpha'$ P58

Eq.49 $[-\ln(1-\alpha)]^{1/n} = k(t-t_0)$ P58

Eq.50 $\frac{d\alpha}{dt} = P(1-\alpha)$ P59

Eq.51 $\alpha = 1 - e^{-Kt}$ P59

Eq.52 $\alpha = ke^{k_b t}$ P61

Eq.53 $\frac{dN}{dt} = k_N N_0 + N\,[k_b - k_T]$ P62

Eq.54 $\frac{dN}{dt} = N\,[k_b - k_T]$ P62

Eq.55 $\frac{d\alpha}{dt} = k'N$ P62

Eq.56 $k_T = k_b(\frac{\alpha}{\alpha_i})$ P62

Eq.57 $\frac{dN}{d\alpha} = k''\,[1 - \frac{\alpha}{\alpha_i}]$ P62

INDEX DES FORMULES

Eq.58 $N = k''\,[\alpha - \frac{\alpha^2}{2\alpha_i}]$ P62

Eq.59 $\frac{d\alpha}{dt} = k_b\alpha(1-\alpha)$ P63

Eq.60 $\ln\left(\frac{\alpha}{1-\alpha}\right) = k_b t + c$ P63

Eq.61 $\frac{dL}{dt} = -\mathrm{D}\,\frac{M_{AB}}{M_B\rho}\frac{dC}{dx}$ P67

Eq.62 $\frac{dC}{dx_{x=L}} = -\frac{(C_2-C_1)}{L}$ P67

Eq.63 $L^2 = \frac{2D[M_{AB}(C_2-C_1)]}{M_B\rho}t = kt$ P67

Eq.64 $\alpha = (\mathrm{k_d t})^{\frac{1}{2}}$ P68

Eq.65 $(1-\alpha)\ln(1-\alpha) + \alpha = \mathrm{kt}$ P68

Eq.66 $\mathrm{k} = \frac{4\lambda^2\mathrm{k}'}{{\mathrm{r_0}}^2}$ P68

Eq.67 $\alpha = \frac{\mathrm{m_0}-\mathrm{m_t}}{\mathrm{m_0}}$ P69

Eq.68 $\alpha = \frac{\frac{4}{3}\pi\rho{\mathrm{a_0}}^3 - \frac{4}{3}\pi\rho{\mathrm{a_t}}^3}{\frac{4}{3}\pi{\mathrm{a_0}}^3} = \frac{{\mathrm{a_0}}^3 - {\mathrm{a_t}}^3}{{\mathrm{a_0}}^3}$ P69

Eq.69 $\alpha = \frac{{\mathrm{a_0}}^3 - (\mathrm{a_0}-\mathrm{l})^3}{{\mathrm{a_0}}^3}$ P69

Eq.70 $\mathrm{l} = \mathrm{a_0}(1-(1-\alpha)^{\frac{1}{3}})$ P70

Eq.71 $(1-(1-\alpha)^{\frac{1}{3}})^2 = \mathrm{k_g t}$ P70

INDEX DES FORMULES

Eq.72 $1 - \frac{2}{3}\alpha - (1-\alpha)^{\frac{2}{3}} = kt$ P70

Eq.73 $-\ln(1-\alpha) = (kt)^{m}$ P71

Eq.74 $a = a_0 - kt$ P74

Eq.75 $m_0 = n \times V_0 \times \rho$ P75

Eq.76 $\alpha = \frac{nV_0\rho - nV\rho}{nV_0\rho}$ P75

Eq.77 $V_0 = {a_0}^3$ P76

Eq.78 $V_0 = \frac{4}{3}\pi . {a_0}^3$ P76

Eq.79 $1 - (1-\alpha)^{\frac{1}{3}} = \frac{kt}{a_0} = k't$ P76

Eq.80 $V_0 = \pi . {a_0}^2 . \text{hauteur}$ P77

Eq.81 $1 - (1-\alpha)^{\frac{1}{2}} = \frac{kt}{a_0} = k't$ P77

Eq.82 $1 - (1-\alpha)^{\frac{1}{3}} = k't$ P77

Eq.83 $1 - (1-\alpha)^{\frac{1}{2}} = k't$ P77

Eq.84 $1 - (1-\alpha)^{\frac{1}{n}} = k't$ P77

Eq.85 $g(\alpha) = \alpha^{m}(1-\alpha)^{n}(-\ln(1-\alpha))^{p}$ P81

Eq.86 $\frac{d\alpha}{dt} = A . \exp(\frac{-E_a}{R.T}) f(\alpha)$ P83

INDEX DES FORMULES

Eq.87 $\ln\left(\frac{d\alpha}{dt}\right) = \ln(A) - \frac{E_a}{R.T} + \ln(f(\alpha))$ P83

Eq.88 $T(t) = T_0 + \beta t$ P84

Eq.89 $\frac{d\alpha}{dT} = \frac{d\alpha}{dt} \times \frac{dt}{dT} = \frac{A}{\beta} e^{-\frac{E_a}{RT}} f(\alpha)$ P84

Eq.90 $\ln(k) = \ln(A) - \frac{E_a}{R.T} + B.(RH)$ P87

Eq.91 $k_{T,RH} = A \times \exp\left(-\frac{E_a}{R.T}\right) \times \exp(B.RH)$ P87

Eq.92 $\frac{d\alpha}{dt} = k.[M]^m.[H_2O]^n$ P88

Eq.93 $\frac{d\alpha}{dt} = k.[RH]^N$ P89

Eq.94 $\frac{d\alpha}{dt} = k.[VP]^N$ P89

Eq.95 $\frac{d\alpha}{dt} = k(T).H(RH).t$ P90

Eq.96 $k_i = K_i.(\frac{kb.T}{h}).e^{(\frac{-E\alpha}{R.T})}$ P97

Eq.97 $K_i = 1 + \frac{1}{24}.(\frac{h\vartheta_i}{k_b T})^2$ P97

Eq.98 $\frac{dx}{dt} = k_i[A][B]$ P97

Eq.99 $k_i = (1 + \frac{1}{24}.\left(\frac{h\vartheta_i}{k_b T}\right)^2).(\frac{kb.T}{h}).e^{(\frac{-E\alpha}{R.T})}$ P103

Eq.100 $k_T = A.e^{\frac{-E_a}{R.T}}$ P142

INDEX DES FORMULES

Eq.101 $k_{T,H} = A.\, e^{\frac{-E_a}{R.T}}.\, e^{B.H}$ ……P142

Eq.102 $k_{T,H} = A.\, e^{\frac{-E_a}{R.T}}.\, H^{N_1}$ ……P143

Eq.103 $g(\alpha) = k_{T,H} \cdot t$ ……P143

Eq.104 $g(\alpha) = k_{T,H} \cdot t^{N_2}$ ……P144

Eq.105 $\alpha(t) = A.\, e^{\frac{-E_a}{R.T}}.\, e^{B.H}.\, t^{N_2}$ ……P145

Eq.106 $\alpha(t) = A.\, e^{\frac{-E_a}{R.T}}.\, H^{N1}.\, t^{N_2}$ ……P145

Eq.107 $EQM = \sqrt{\frac{\sum(\text{Valeur observée} - \text{valeur attendue})^2}{\text{Nombre de valeurs}}}$ ……P147

Eq.108 $CIA = -2Log\tilde{L} + 2k$ ……P147

Eq.109 $CIB = -2Log\tilde{L} + k\log(n)$ ……P147

Abréviations

ACQ : Attribut Critique de Qualité

AMX : Amoxicilline

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

APA : Antibiothérapie Parentérale Ambulatoire

APS : Accelerated Predictive Stability

AS : Amoxicilline Sodique

ASAP : Accelerated Stability Assessment Program

ATB : Antibiotique

ATH : Amoxicilline Trihydratée

BPP : Bonnes Pratiques de Préparation

CE : Communauté Européenne

CIA : Critère d'Information d'Akaike

CIB : Critère d'Information Bayésien

CIH : Conférence Internationale d'Harmonisation

CMC / MCC : Cellulose Microcristalline / Microcrystalline Cellulose

CPCM : Conductor-like Polarizable Continuum Model

CRIOAC : Centre de Référence des Infections Ostéo Articulaires Complexes

DAD : Diode Array Detector / Détecteur à Barette de Diode.

DFT : Théorie de la Fonctionnelle de la Densité

Abréviations

DM : Dispositif médical

DMS : Dispositif Médical Stérile

EQM : Erreur Quadratique Moyenne

ESPA : Étude Semi Prédictive Accélérée

ESPT : Étude Stabilité Prédictive Total

GERPAC : Groupe d'Évaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée

HF : Hartree Fock

HPLC-UV / CLHP-UV: Chromatographie Liquide Haute Performance– Ultra-Violet

HR / RH : Humidité Relative / Relative Humidity

IDE : Infirmier Diplômé D'Etat

IOA : Infection OstéoArticulaire

IRTF : Spectrométrie Infra Rouge à Transformée de Fourier

MITM : Médicament d'Intérêt Thérapeutique Majeur

PA : Principe Actif

pH : Potentiel Hydrogène

PK/PD : Pharmacocinétique / Pharmacodynamie

PLP : Protéine Liant les Pénicillines

PM : Prednisone Micronisée

PRABI-LG : Pôle Rhône Alpes de Bio-Informatique – Lyon Gerland

Abréviations

PUI : Pharmacie à Usage Intérieur

PVC : PolyChlorure de Vinyle

QDB : Quality By Design

QSP : Quantité Suffisante Pour

RMSE : Root Mean Square Error

SFSTP : Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques

UHPLC : Chromatographie Liquide Ultra Haute Performance

UV-VIS : UltraViolet Visible

USP : United States Pharmacopeia

RÉSUMÉ - ABSTRACT

Le développement d'une préparation pharmaceutique hospitalière implique une analyse préliminaire de faisabilité et de risque. Cette analyse menée a priori par le pharmacien en charge du développement de la formulation doit statuer sur le risque possible d'instabilité de la préparation. Ensuite, cette stabilité est étudiée de manière prospective. Cette évaluation est incontournable. Longue, coûteuse et nécessitant des équipements, elle n'est pas dénuée de risque d'échec.

Ce travail de recherche universitaire propose tout d'abord une mise en contexte scientifique sur les modalités de modélisation des cinétiques chimiques appliquées à l'étude de la stabilité des médicaments. Au cours de cette revue de la littérature, l'impact des (i) mécanismes réactionnels physiques et chimiques couplés aux facteurs environnementaux de (ii) température et (iii) d'humidité seront modélisés.

Après cette mise en contexte, deux approches prédictives de la stabilité des médicaments formulées sont investiguées. La première approche propose une prédiction totale de la vitesse de dégradation d'un principe actif formulé. Cette approche est présentée et appliquée au développement d'une formulation injectable. Cette approche nécessite une ressource informatique conséquente limitant grandement son application. La seconde approche est de type semi prédictive. Elle propose à partir de quelques points expérimentaux générés en conditions accélérées de représenter un modèle décrivant la vitesse d'une réaction chimique. De plus, cette représentation mathématique est extrapolée pour prédire au long cours la stabilité d'une formulation. Cette méthode est présentée au cours du chapitre III et appliquée avec succès à la prédiction de la stabilité de deux formulations orales. Les données de stabilité sont enfin comparées aux descripteurs moléculaires physiques et chimiques des principes actifs étudiés pour en comprendre leurs impacts respectifs.

RÉSUMÉ - ABSTRACT

The development of a hospital pharmaceutic formulation implies an a priori analysis of feasibility and risk. During this analysis, the pharmacist responsible of the formulation development must take a decision about the theoretical risk of instability of the formulation. Then, a prospective analysis of the formulation stability is done. This evaluation is inevitable. It is time consuming, costly, requires equipment and has a risk of failure.

This work presents a scientific introduction about kinetic modelling applied to stability studies. During this literature review, the chemical and physical reaction pathways and the impact of temperature and humidity are depicted in mathematical models.

Then, two approaches are introduced. The first one proposes a total prediction of the degradation kinetic of an active pharmaceutical ingredient in its formulation. This method is presented and applied to the pharmaceutical development of a formulation. Due to its huge need of computer resources, its applicability will be limited.

The second approach is a semi predictive stability assessment. During this method, a few sets of experimental data is compared to a set of kinetic models. The best fitted model is chosen and then extrapolated to predict the stability of a formulation. This method is presented in chapter III and successfully applied to the prediction of the stability of two drugs.

Finally, stability data are compared to molecular descriptors and physicochemical property of the studied active pharmaceutical ingredients to understand their impact.

INTRODUCTION

1. Introduction

Dans les hôpitaux, 30 à 50 % des médicaments sont administrés par voie injectable [1]. Historiquement, ces médicaments étaient reconstitués au chevet du patient puis administrés extemporanément. De nombreux risques sont associés à la préparation et à l'administration de médicaments injectables, e.g. les risques d'erreurs de dose, les contaminations microbiologiques et le risque professionnel lié à la manipulation de cytotoxiques [2].

Dans les années 1970/1980, afin de prévenir ces risques, les hôpitaux ont fait le choix de la centralisation des préparations dans des unités pharmaceutiques dédiées (Unités de Reconstitution Centralisée / Unités de Mise en Forme Aseptique / Centralised Intraveinous Additive Service). Ces unités permettent la mise en place de préparations dans des conditions aseptiques, selon des procédures standardisées, par du personnel dédié et compétent. Les préparations sont libérées après une série de contrôles qualité incluant le contrôle microbiologique et le contrôle analytique. Ces modalités de préparation et de libération permettent la sécurisation des fabrications des préparations (i) pour nutrition parentérale, (ii) pour chimiothérapies, (iii) pour antibiothérapie systémique ou locale. Des publications mentionnent également un intérêt dans la préparation d'antiémétiques ou d'antalgiques injectables [3].

Au-delà de la maitrise des risques liés à ces préparations, la centralisation des processus de fabrication fait face à des problématiques financières, organisationnelles, et pharmaceutiques. Plus spécifiquement, la caractérisation des conditions de stabilité d'une molécule d'intérêt thérapeutique est un élément clé pour l'élaboration de l'analyse (i) de faisabilité et (ii) de risque des préparations pour usage parentéral.

La Conférence Internationale d'Harmonisation (CIH) est un organisme international chargé d'harmoniser, entre les pays, les exigences requises pour le développement du médicament. La CIH définit la stabilité d'un médicament par son aptitude à conserver ses propriétés physico-chimiques, microbiologiques et biopharmaceutiques dans des limites spécifiées, pendant toute sa durée de validité. La stabilité d'un médicament est sa capacité à maintenir un effet thérapeutique spécifié durant la durée de validité. La stabilité microbiologique d'un

médicament consiste à maintenir la charge microbienne en deçà des seuils spécifiés, pendant la durée de validité. Enfin, la stabilité physico-chimique d'un médicament peut être définie par la conservation de plus de 90 % ou 95 % de sa teneur initiale en principe actif pendant la durée de validité, selon la molécule et le référentiel appliqué.

La stabilité physico-chimique d'un principe actif est dépendante de facteurs intrinsèques à la molécule, inhérents au médicament, ou extrinsèques à l'ensemble du système principe actif / médicament. Ces facteurs sont présentés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : description et classification des mécanismes d'instabilité.

Facteurs d'instabilité	Mécanismes d'instabilité
Facteurs intrinsèques à la molécule	Mécanismes liés à la structure chimique de la molécule : groupements ou structures chimiques sensibles à l'hydrolyse, à l'oxydation, à la réduction, à la photolyse, à la thermolyse et à la décarboxylation.
Facteurs inhérents au médicament	Mécanismes liés à la forme pharmaceutique. Ce sont les facteurs liés à la formulation pouvant déstabiliser le principe actif. Ce sont pour les formes liquides ou solides : la concentration du principe actif, le pH de la solution, la forme ionique, le solvant, les éventuels excipients et le contenant.
Facteurs extrinsèques	Mécanismes liés aux facteurs environnementaux externes au système principe actif / médicament: la température, la lumière, l'oxygène, l'humidité par exemple.

Le principe actif, soumis à différents stress, est dégradé depuis les sites de fragilité de son squelette chimique. Ces dégradations vont conduire à la diminution de la teneur en principe actif dans le médicament, et à la formation de produits de dégradation. L'étude de la stabilité chimique d'un médicament consiste en la mesure de la concentration du principe actif dans le médicament, ainsi qu'en la recherche, la qualification et la quantification des éventuels produits de dégradation.

La méthode de dosage choisie permettant l'étude de stabilité chimique utilise le plus souvent des techniques analytiques qualitatives et quantitatives, incluant une étape de séparation des molécules d'intérêt et de leurs produits de dégradation. Les méthodologies les plus utilisées

sont les dosages par chromatographie liquide haute performance (HPLC ou UHPLC pour Ultra Haute Performance) couplée à une détection dans les domaines ultraviolet-visible (UV-VIS) ou par spectrométrie de masse (MS). L'étude de la stabilité physico-chimique d'un médicament (i.e., une étape obligatoire dans le développement d'une nouvelle préparation) requiert des analyses prospectives répétées sur la durée prévue d'utilisation, parfois une longue durée.

Dans ce travail, nous proposons une approche alternative de l'étude de la stabilité physico-chimique d'un principe actif par un procédé de type Quality By Design (QBD). Le QBD, comme défini par la CIH, est une approche consistant à développer un médicament en fixant des cibles de qualité prédéfinies grâce aux données scientifiques disponibles. C'est la définition d'un espace de qualité, dans lequel l'étude de stabilité pourrait être menée, à partir d'éléments prédictifs du comportement d'un principe actif dans une forme pharmaceutique. Cet espace de qualité sera construit par deux approches : une approche de type prédictive totale, dans laquelle les processus réactionnels d'une molécule seront calculés numériquement pour aboutir à une prévision de sa cinétique de dégradation. Une seconde approche, de type semi-prédictive, sera également appliquée. Cette seconde approche utilisera une série de données générées sur une période courte, pour construire un modèle mathématique décrivant la dégradation du médicament. Ce modèle est utilisé pour extrapoler les données. Enfin, les données calculées et extrapolées seront comparées à des mesures prospectives classiques de la stabilité d'une molécule en solution.

Ainsi, ce travail est décliné en trois chapitres. Au cours du premier chapitre est présenté un état de l'art quant aux modélisations cinétiques de la dégradation des médicaments. Au cours du second chapitre, la méthodologie prédictive totale est présentée, expérimentée et appliquée dans le développement d'une formulation injectable. Enfin, le dernier chapitre introduit les méthodes semi-prédictives et leurs applications au développement de deux formulations orales.

CHAPITRE I :

MODÉLISATION DE LA CINÉTIQUE DE DÉGRADATION DES MÉDICAMENTS

1. Introduction à la modélisation de la cinétique de la dégradation des médicaments.
2. Concepts cinétiques communs aux phases homogènes et hétérogènes
3. Cinétique de dégradation chimique en phase homogène
4. Cinétique de dégradation chimique en phase hétérogène.
5. Effet de la température : la loi d'Arrhenius
6. Influence de l'eau et modélisation du paramètre d'humidité
7. Discussion et conclusion

1. Introduction à la modélisation de la cinétique de la dégradation des médicaments.

Une réaction chimique est définie par une transformation au cours de laquelle une ou plusieurs entités chimiques disparaissent, les réactifs, tandis qu'une ou plusieurs autres apparaissent, les produits. Au cours d'une telle réaction, les liaisons covalentes des molécules composant les réactifs se brisent et se reforment pour générer les produits. « *Rien ne se perd, rien ne se crée, tout se transforme, ainsi résumait Lavoisier* ».

Selon une représentation habituelle, une série de réactifs A, B, C, … en quantité a, b, c, se transforment en produits X, Y, Z, …, en quantité x, y, z. Cette réaction peut s'écrire ainsi :

$$aA + bB + cC \rightarrow xX + yY + zZ$$

Une réaction chimique est caractérisée par une vitesse, ou cinétique. La cinétique chimique est définie comme la science s'intéressant à l'étude de la vitesse des réactions chimiques. Elle étudie l'évolution temporelle des systèmes chimiques. Plusieurs profils de vitesses de réaction existent dans la nature. Des réactions rapides, voire instantanées, *i.e* explosives, aux réactions très lentes pouvant se dérouler pendant plusieurs centaines d'années.

L'évaluation de la vitesse d'une réaction chimique va consister à mesurer (i) la disparition de l'un des réactifs, ou (ii) l'apparition de l'un des produits, et à rapporter cette mesure au temps.

Les concepts de vitesse de réaction et de cinétique chimique apparaissent à la suite de l'essor de la Chimie du XVIIIème siècle. Directeur de la pharmacie centrale de St Pétersbourg, G. Kirchhoff mesure et caractérise en 1812 la vitesse d'hydrolyse de l'amidon. L. J. Thenard, chimiste français, modélisait en 1818 la décomposition de l'eau oxygénée en quantifiant les variations de pressions liées au dégagement d'oxygène. Les bases cinétiques furent posées.

Plusieurs avancées majeures sont ensuite accomplies dans la compréhension des facteurs influençant la vitesse des réactions. Ludwig Wilhelmy chimiste Allemand, travaille sur l'hydrolyse

du saccharose. En décrivant la cinétique de la réaction via une équation différentielle, celui-ci constate que la vitesse de la réaction est proportionnelle aux concentrations en réactifs. Il modélise la loi cinétique d'ordre 1 en 1850. Plus après, la réaction de l'acide chlorhydrique sur l'eau oxygénée mène Harcourt et Esson à la caractérisation de la loi cinétique d'ordre 2 en 1858.

Les réelles révolutions arrivent avec d'abord la description de la loi d'action de masse, exposée en 1867 par C. Guldberg et P. Waage, deux chimistes norvégiens. Elle décrit les conditions d'un équilibre chimique en théorisant le concept d'enthalpie libre de réaction. Cette enthalpie libre, notée ΔG, dépend de la température et de la pression environnementale. Une réaction est considérée comme à l'équilibre lorsque $\Delta G = 0$. Le chimiste néerlandais Van't Hoff complète en 1885 cette approche en introduisant la relation isobare portant son nom et modélisant, selon les variations de température, l'équilibre d'une réaction chimique. C'est à partir de ces travaux qu'Arrhenius, chimiste suédois, énonce la « Loi d'Arrhenius », qui décrit la variation de vitesse d'une réaction selon la température. Cette loi plus que centenaire sera largement exploitée lors de ce travail.

Avec la relation d'Arrhenius, l'approche cinétique est amorcée. Les bases de la compréhension des mécanismes réactionnels posées tout au long du XIXème siècle en permettent son essor. La vitesse d'une réaction d'ordre simple devenant modélisable, la compréhension des mécanismes réactionnels, leur caractérisation et leur modélisation ponctueront la vie de la Chimie du XXème siècle.

Durant l'entre-deux guerres, les chimistes s'intéressent aux concepts de cinétique chimique en phase homogène et hétérogène. Un mélange en phase homogène est défini comme ne comportant qu'une seule phase miscible. Un mélange en phase hétérogène permet la distinction nette de deux phases homogènes différentes. Ainsi, un solide dans un liquide est considéré comme un mélange hétérogène, de même qu'un solide avec un solide, un solide dans un gaz ou encore un liquide dans un gaz.

Aussi, Bernard Delmon définissait les réactions hétérogènes comme « Les réactions faisant intervenir un ou plusieurs solides […], mais encore toutes les réactions dans lesquelles il existe une différence de composition entre les diverses parties du système réactionnel » [4]. Peuvent donc y

être inclues les réactions solide – solide, solide- liquide, liquide-gaz, solide-gaz, liquide-liquide ou gaz-gaz si l'un des réactifs ou produit de réaction se trouve déphasé. Dans la littérature anglo-saxonne, le concept de cinétique hétérogène est parfois dit cinétique en phase solide, ou *solid state kinetic*. Nous conserverons au cours de ce travail les nomenclatures de « *Cinétique en phase homogène* » et « *Cinétique en phase hétérogène* », celles-ci permettant une représentation plus exhaustive des configurations.

Les avancées du milieu du XXème siècle consistèrent en la description mathématique des phénomènes cinétiques dits en phase hétérogène, ou également appelés phénomènes cinétiques à l'état solide. D'abord, les mécanismes des réactions de contraction géométrique sont élucidés dans les années 1930, ainsi que les modélisations cinétiques associées. Hume et Colvin décrivent les phénomènes de contraction géométrique en 2 dimensions en 1928 tandis que Spencer et Topley proposent un modèle décrivant ces phénomènes de contraction en 3 dimensions en 1929. Les notions de cinétiques régulées par des phénomènes de diffusion sont également introduites, avec l'équation de Jander en 1928, suivi de celle de Ginstling en 1950. Puis, à la suite de la Seconde Guerre mondiale, de nouvelles réactions et de nouveaux concepts sont proposés, dans un contexte international de tension et de compétition.

La guerre froide est marquée par la compétition scientifique entre bloc de l'est et bloc de l'ouest, également dans la caractérisation et la modélisation des différents phénomènes en phase hétérogène. Les mécanismes de germination sont élucidés par le Russe Bagdassarian en 1945. Comprendre et caractériser ce phénomène ouvre la voie à la modélisation de la nucléation. Les chimistes russes Kolmogorov, Erofeev, et Américains Avrami, Mehl et Johnson apportent entre 1940 et 1953 chacun une amélioration à l'équation de nucléation Avrami-Erofeev, aussi appelée JMAEK pour Johnson – Mehl – Avrami – Erofeev – Kolmogorov. Les phénomènes auto-catalytiques sont décrits et modélisés par Prout et Tompkins à la fin des années 1940. Enfin, dans les années 1970, les descriptions cinétiques des réactions régulées par une diffusion sont enrichies par Holt, Cutler et Milton en 1967, puis Ball et Casson en 1973.

Aujourd'hui, plus d'une dizaine de modèles cinétiques permettent la description mathématique de réactions chimiques en phase hétérogène. Des plus simples, *i.e* cinétique linéaire d'ordre 0 ou 1 ; aux plus complexes tels que ceux de la nucléation JMAEK, ou de l'autocatalyse de Prout-

Tompkins, ils permettent la compréhension, la caractérisation et la modélisation cinétique des réactions chimiques.

Cette connaissance acquise, la maitrise de la cinétique d'une réaction doit également intégrer les descripteurs mathématiques environnementaux. Plusieurs paramètres peuvent impacter la vitesse, parmi lesquels la pression, l'oxygène, l'humidité, la température, l'exposition à la lumière, ou encore les catalyseurs acides, basiques. Pour étudier la stabilité des médicaments en conditions réelles, tous ces paramètres ne seront pas pertinents. En effet, la pression par exemple, est généralement atmosphérique, et ne varie que peu pendant la vie d'un médicament. De même, l'oxygène, s'il peut avoir un impact sur la dégradation de certaines molécules sensibles, varie généralement peu dans l'environnement. Un médicament peut être *e.g.*, protégé de la lumière ou tamponné à pH optimal. Les facteurs environnementaux pertinents à modéliser dans le cadre de ce travail sont uniquement la température et l'humidité.

Ainsi, décrite en 1889 par Svante August Arrhenius, la « Loi d'Arrhenius » permet la représentation de la vitesse d'une réaction selon la température. Puis l'humidité, dont la première représentation est proposée par Waterman en 2005, et augmentée par Clancy en 2017, sera intégrée aux équations cinétiques.

Au final, la connaissance d'un mécanisme réactionnel, de l'effet de la température et de l'humidité permettent la représentation mathématique de l'évolution temporelle d'une quantité de principe actif dans un médicament.

Alors inversement, par l'expérimentation et l'observation, la connaissance de l'évolution de la quantité restante d'un médicament dans le temps permet de générer un modèle. À l'ère de l'informatique et de la métadonnée, il est tous les jours plus aisé de corréler ce modèle aux bases de données bibliographiques. Alors, en rapprochant l'expérimental aux données théoriques, le mécanisme réactionnel est mis en évidence. De plus, le modèle extrapolé, il devient possible de prédire le devenir des concentrations ou des quantités de principes actifs dans un médicament. C'est l'objectif de ce travail : mesurer, caractériser et prédire la stabilité des médicaments. Pour cela, le premier chapitre est une description exhaustive des outils bibliographiques utiles à la modélisation des réactions.

Au cours de ce premier chapitre, *primo* nous définirons et décrirons les concepts mathématiques, chimiques et cinétiques permettant la modélisation des réactions. Cette modélisation est appliquée à l'étude de la stabilité chimique des médicaments. *Secundo*, les principaux mécanismes de réaction et leurs représentations mathématiques seront décrits. *Tertio*, la loi d'Arrhenius sera présentée. *In fine*, le rôle de l'humidité dans le processus d'instabilité des molécules et du médicament sera abordé. Ces quatre outils permettront de modéliser la stabilité et de la prédire.

2. Concepts cinétiques communs aux phases homogènes et hétérogènes

2.1 Introduction

La cinétique chimique est définie comme la science s'intéressant à l'étude de la vitesse des réactions chimiques. Elle étudie l'évolution temporelle des systèmes chimiques et l'influence des facteurs extérieurs sur cette évolution : pression, température, concentration, humidité, catalyseurs et tout autre paramètre physique ou chimique impactant.

L'évaluation de la vitesse d'une réaction chimique va consister à mesurer (i) la disparition de l'un des réactifs, ou (ii) l'apparition de l'un des produits, et à rapporter cette mesure au temps. La modélisation de la vitesse de réaction tiendra compte des paramètres pouvant avoir une influence. Dans le contexte de ce travail, la vitesse de réaction dépendra de tout facteur physique, chimique ayant une répercussion sur l'étude de la stabilité d'un médicament. Ainsi, la vitesse de réaction est définie et sa modélisation proposée.

2.2 Vitesse d'une réaction

Selon une représentation habituelle, une réaction chimique dont une série de réactifs *A, B, C,* … en quantité *a, b, c,* se transforment en produits *X, Y, Z, …,* en quantité *x, y, z* peut s'écrire ainsi :

$$aA + bB + cC \rightarrow xX + yY + zZ$$

Dans le cas d'une réaction simple, on peut considérer qu'un médicament *M* en quantité *[M]* est transformé en un produit de dégradation *P* en quantité *[P]* selon la réaction :

$$M \rightarrow P$$

L'étude de la vitesse d'une telle réaction va consister à mesurer (i) l'apparition de P ou (ii) la disparition de M rapporté au temps. La représentation mathématique de cette cinétique est donnée par l'équation éq. 1 :

$$\frac{-d[M]}{dt} = \frac{d[P]}{dt} \qquad \text{Eq. 1}$$

Ainsi, la vitesse de la réaction est obtenue par mesure temporelle de l'apparition du produit ou de l'un des produits de la réaction si celle-ci en génère plusieurs ; ou par mesure de la disparition ou consommation de l'un des réactifs. Lors de l'étude de la stabilité chimique d'un médicament, la cinétique peut être obtenue en quantifiant la disparition du médicament, ou l'apparition d'un produit de dégradation. Afin de s'affranchir des variations massiques ou volumiques, la quantité d'un réactif ou d'un produit est mesurée selon l'avancement d'une réaction.

2.3 Avancement d'une réaction

Lors de l'étude de la cinétique d'une réaction, la mesure de l'apparition d'un produit de réaction ou celle de la disparition d'un réactif est rapportée au temps. La vitesse des réactions est généralement exprimée selon leur avancement. Soit le paramètre α décrivant l'avancement d'une réaction en fonction du temps comme présenté par l'équation éq. 2:

$$\alpha(t) = \frac{\%\,Dégradation(t) - \%\,Dégradation(0)}{\%\,Dégradation(total) - \%\,Dégradation(0)} \qquad \text{Eq. 2}$$

Cette équation permet une représentation complète de α. En effet, une mesure à t = 0 permet déjà d'objectiver l'initiation d'une réaction. Dans ce cas, le pourcentage de dégradation au temps initial n'est pas égal à zéro.

S'il est difficile d'apprécier à priori le pourcentage total de dégradation, il est aisé de convenir que tout le produit de réaction initial est consommé au temps final : [% Dégradation (total)] = 100 %. De plus, si la réaction est suffisamment lente pour que le pourcentage de dégradation à t = 0 soit négligeable, l'équation éq. 2 est présentée comme l'équation éq. 3 :

$$\alpha(t) = \frac{\%\ Dégradation(t)}{\%\ Dégradation(total)} = \frac{Quantité\ dégradée(t)}{Quantité\ initiale} \qquad \text{Eq. 3}$$

Enfin, en phase solide, la notion de concentration ne peut être appliquée. L'avancement de la réaction est exprimé selon des considérations massiques. Alors, α est présenté selon l'équation éq. 4 :

$$\alpha(t) = \frac{m(0)-m(t)}{m(0)-m(\infty)} \qquad \text{Eq. 4}$$

Considérant qu'à un temps infini, toute la masse du produit suivi est consommée : m_∞ est nul. L'équation éq. 4 alors devient l'équation éq. 5 :

$$\alpha(t) = \frac{m(0)-m(t)}{m(0)} \qquad \text{Eq. 5}$$

L'évolution du paramètre d'avancement α, rapporté au temps, permet le suivi cinétique de la réaction :

$$\int_0^t \frac{d\alpha}{dt} = f(\alpha) \qquad \text{Eq. 6}$$

Cette équation éq. 6 permet d'obtenir f(α), une composante de l'équation générale cinétique que nous utiliserons par la suite. f(α) dépend du mécanisme réactionnel.

2.4 Les mécanismes réactionnels et leur modélisation

Le mécanisme d'une réaction est l'enchainement des étapes par lesquelles les changements chimiques ont lieu. La compréhension fine de ces étapes en permet leur représentation

mathématique. Ainsi, un modèle, c'est-à-dire une représentation mathématique des phénomènes empiriques est appliqué à la description des principaux mécanismes réactionnels.

En phase homogène, les représentations mathématiques des réactions sont obtenues par mesure directe des paramètres cinétiques permettant la compréhension du procédé réactionnel et sa modélisation. Connaissant ce procédé, les paramètres impactant la vitesse de réaction, *i.e* pression, température, concentration, ou tout autre pertinent peuvent ensuite être intégrés à l'équation mathématique de la réaction. En phase hétérogène, l'usage est de rapprocher les observations expérimentales au modèle mathématique le plus pertinent parmi les différentes équations décrites dans la littérature. Ainsi, la représentation mathématique la plus fidèle aux données empiriques pourra être considérée comme équation de la réaction. Il en sera déduit son mécanisme.

Les mécanismes réactionnels employés dans le champ pharmaceutique seront présentés en partie « 3. Cinétique de dégradation chimique en phase homogène » et « 4. Cinétique de dégradation chimique hétérogène » de ce présent chapitre. Une description détaillée des phénomènes physiques et chimiques en phase homogène et hétérogène est proposée. Chaque étape est explicitée et commentée. Enfin, pour chaque grand type de mécanisme, l'équation mathématique le décrivant est également proposée. La représentation graphique de chaque modèle est présentée et discutée.

Ainsi, le modèle cinétique associé à chaque type de réaction est intégré dans l'équation générale permettant la description de la dégradation chimique des médicaments appliquée à l'étude de leur stabilité.

3. Cinétique de dégradation chimique en phase homogène

3.1 Introduction

Un système thermodynamiquement homogène est défini comme ayant une composition chimique et des propriétés physiques identiques en tout point du système. Les systèmes homogènes sont donc généralement des liquides ou des gaz. Dans ce type de phase, les mécanismes réactionnels suivent des étapes de chimie classique, généralement sans étape de transformation physique. Les

vitesses de réaction, dans des conditions définies, sont décrites par les équations des ordres de réaction. Au cours de cette partie seront décrites les cinétiques d'ordre 0, d'ordre 1 et d'ordre 2. De plus, ces cinétiques seront appliquées à la décomposition chimique des médicaments en solution. Les ordres 0, 1 et 2 étant les modélisations mathématiques qui décrivent la majorité de ces dégradations chimiques. Lors d'une réaction chimique, soit A une entité chimique, à la concentration *[A]*, réagit avec un ou des réactifs *B, C, D, …* aux concentrations *[B], [C], [D]* pour former un produit *X* selon la réaction :

$$aA + bB + cC \rightarrow xX$$

La réaction chimique ci-dessus est modélisée par l'équation éq. 7 :

$$\frac{d[X]}{dt} = \frac{-d[A]}{dt} = k_0[A]^p[B]^q[C]^r[D]^s \qquad \text{Eq. 7}$$

Où *a, b, c, d* et *x* sont le nombre de moles de *A, B, C, D* et *X* lors de ce processus réactionnel, t le temps et k_0 la constante de vitesse de la réaction dans les conditions spécifiées, p, q, r et s sont les ordres partiels de la réaction. Leur somme donne l'ordre de la réaction. La constante k_0, est la constante de vitesse pour une température donnée. Elle est obtenue selon la loi d'Arrhenius présentée en partie 5. Effet de la température : la loi d'Arrhenius de ce chapitre. À partir de ces nomenclatures, il sera traité des cinétiques de réaction d'ordre 0, d'ordre 1, d'ordre 2 et enfin d'ordre 3. Enfin, une équation permettant de regrouper tous les modèles d'ordre sera proposée.

3.2 Réaction d'ordre 0

La cinétique d'ordre 0 est la plus simple à décrire. La cinétique d'une réaction chimique comportant plusieurs réactifs est décrite par l'équation éq. 7 présentée ci-dessus. Lorsque les concentrations des réactifs : *A, B, C, D, …* restent constantes au cours de la réaction, *i.e*. les concentrations sont en large excès et les changements de concentrations sont négligeables, la vitesse de réaction chimique dα/dt peut être exprimée selon l'équation éq. 8 :

$$\frac{d\alpha}{dt} = k_0 \qquad \text{Eq. 8}$$

Au cours d'une telle réaction, la concentration du ou des produits croît linéairement. L'intégration de l'équation éq. 8, pour un temps t compris entre 0 et t, donne l'équation éq. 9 :

$$\alpha(t) = k_0 t \qquad \text{Eq. 9}$$

Au cours d'une telle réaction, la concentration du produit [*X*] croit linéairement à la vitesse k_0. La droite modélisant l'apparition de *X* en fonction de t serait une droite linéaire de pente k_0.

Le modèle de dégradation cinétique d'ordre 0, le plus simple, explique la dégradation de nombreuses molécules en solution ou à l'état solide. Cependant, il n'intervient que dans certaines conditions, et lorsque chaque réactif se trouve en large excès. Lors de l'apparition de réactif(s) limitant(s), la vitesse de réaction est modélisée en prenant en compte ces limitants : on parle alors de cinétique d'ordre 1, d'ordre 2, ou plus.

3.3 Réaction d'ordre 1 ou de « pseudo » ordre 1

La cinétique d'ordre 0 explique les réactions dont chaque réactif se trouve en large excès. Or, lorsque l'un des réactifs est présent en concentration limitante, la diminution de cette concentration doit être prise en compte dans la cinétique de la réaction.

En considérant un réactif limitant et le ou les éventuels autres réactifs en large excès l'équation éq. 1 devient alors :

$$\frac{d[X]}{dt} = \frac{-d[A]}{dt} = k_0[A]^a \qquad \text{Eq. 10}$$

Avec a = 1 dans le cas d'une réaction d'ordre 1 simple :

$$\frac{d[X]}{dt} = k_0([A]_0 - [X]) \qquad \text{Eq. 11}$$

L'équation éq. 12 exprime cette équation selon l'avancement α :

$$\frac{dX}{dt} = k_0(1-\alpha) \qquad \text{Eq. 12}$$

La forme intégrée peut être rédigée comme l'équation éq. 13 :

$$-ln(1-\alpha) = k_0 t \qquad \text{Eq. 13}$$

En phase homogène, cette équation est plus fréquemment exprimée en concentrations, comme proposé par l'équation éq. 14 :

$$[A](t) = [A]_0 exp(-k_0 t) \qquad \text{Eq. 14}$$

La cinétique de dégradation d'une substance en quantité limitée est exprimée selon l'équation (6), avec [A](t) la concentration de la substance A au temps t, $[A]_0$ la concentration de A à t = 0, k_0 la constante cinétique dans les conditions définies et t le paramètre temporel. La modélisation de la diminution de [A] en fonction du temps est une droite exponentielle qui sera représentée par la suite. Cette cinétique décrit de nombreuses réactions en solution aqueuse ou saline, notamment les phénomènes d'hydrolyse simple, lorsque l'un des réactifs, l'eau, est en large excès par rapport à la molécule A en solution. Ce mécanisme est souvent retrouvé dans le cas des médicaments reconstitués en solution, dans une solution saline de NaCl 0,9 % par exemple. Des réactions plus complexes peuvent également intervenir, et ceci même lors d'hydrolyse simple en solution. Ces mécanismes seront modélisés par une cinétique d'ordre 2, ou d'ordres supérieurs.

3.4 Cinétique chimique d'ordre 2 ou d'ordres supérieurs

Nous avons détaillé les modèles cinétiques d'ordre 0 et 1 au cours des parties précédentes. Ces modèles décrivent les cinétiques chimiques de réactions sans réactif limitant pour l'ordre 0, ou avec un seul réactif limitant pour l'ordre 1. On parle de réaction d'ordre 2 lorsque deux réactifs sont en quantité limitante.

Une telle réaction peut s'écrire :

$$aA + bB \rightarrow xX$$

L'équation de cette réaction peut s'écrire selon l'équation éq. 15 :

$$\frac{d[X]}{dt} = k_0[A]^a[B]^b \qquad \text{Eq. 15}$$

Si la réaction est d'ordre 2, alors a + b = 2. L'équation différentielle (15) peut aussi être exprimée selon l'équation éq. 16 :

$$\frac{d[X]}{dt} = k_0([A]_0 - [X])^1([B]_0 - [X])^1 \qquad \text{Eq. 16}$$

De plus, si la réaction est d'ordre 3, une configuration possible peut être que a = 2 et b = 1. Alors, l'équation éq. 17 permet de modéliser la vitesse réactionnelle :

$$\frac{-d[X]}{dt} = k_0([A]_0 - [X])^2([B]_0 - [X])^1 \qquad \text{Eq. 17}$$

L'équation éq. 17 n'est qu'un exemple de configuration de réaction d'ordre 3 comme il peut en exister d'autres.

Ainsi, l'expression de l'avancement α et la vitesse dα/dt deviennent pertinent. En exprimant les équations éq. 16 et éq. 17 selon dα/dt, on obtient éq. 18 et éq. 19 respectivement :

$$\frac{d\alpha}{dt} = k_0(1-\alpha)^2 \qquad \text{Eq. 18}$$

$$\frac{d\alpha}{dt} = k_0(1-\alpha)^3 \qquad \text{Eq. 19}$$

La forme intégrée des équations éq. 18 et éq. 19 donnera éq. 20 et éq. 20 :

$$\left[\frac{1}{1-\alpha}\right] - 1 = k_0 t \qquad \text{Eq. 20}$$

$$\frac{1}{2}\left[\frac{1}{(1-\alpha)^2} - 1\right] = k_0 t \qquad \text{Eq. 21}$$

Ces équations permettent de modéliser la cinétique des réactions d'ordre 2 et 3 en phase homogène. Ces différentes équations portent plusieurs similarités, il est possible de les exprimer selon une seule écriture.

3.5 Équation générale des modèles basés sur les ordres réactionnels et représentation graphique

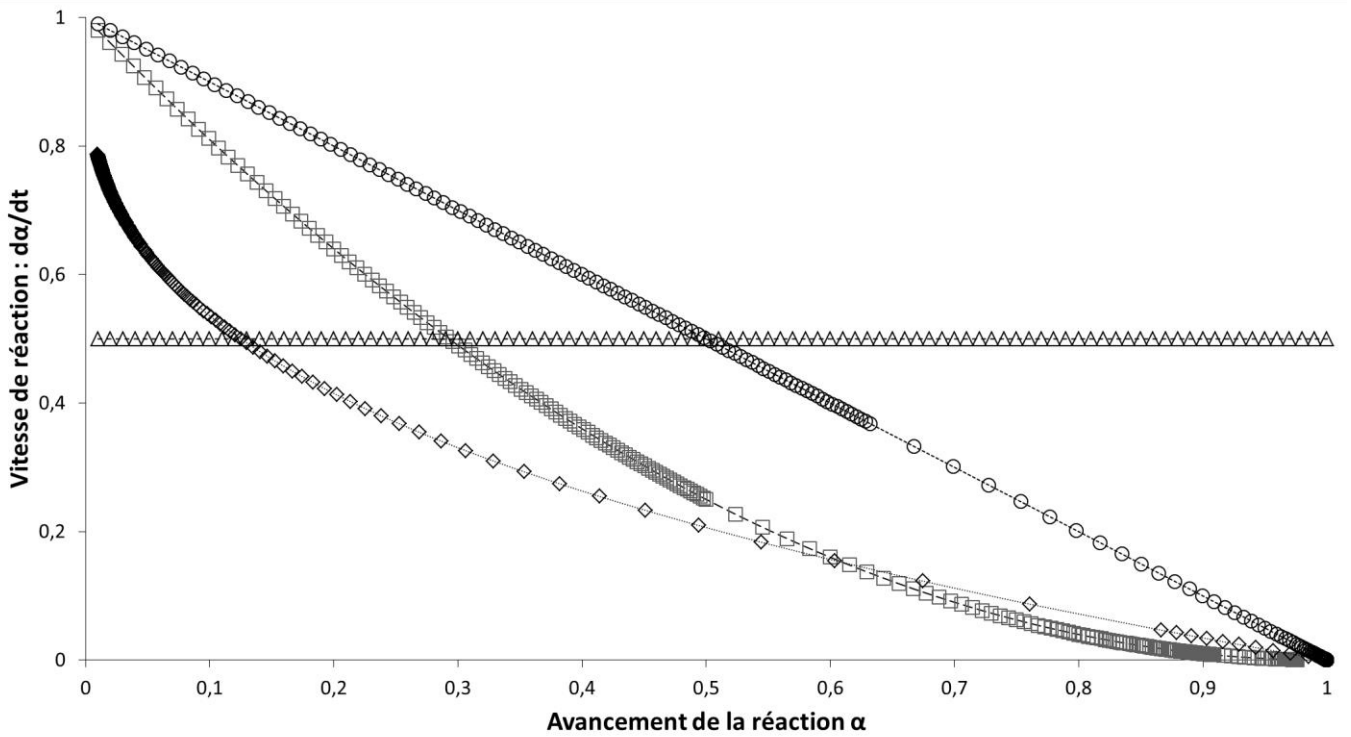
Au cours de cette partie, il a été abordé différents mécanismes de réaction en phase homogène : les réactions d'ordre 0 à 3. Pour chaque type de réaction, un modèle mathématique a été proposé permettant de suivre l'avancement de la réaction en fonction du temps.

Ces modèles portent tous des similarités de rédaction. Ainsi, il est possible et plus aisé de les libeller selon l'équation éq. 22:

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(1-\alpha)^n \qquad \text{Eq. 22}$$

dα/dt étant la vitesse de réaction, k la constante de vitesse selon Arrhenius et n l'ordre de la réaction. Cette modalité d'expression permet d'en faciliter la compréhension et la lisibilité.

La représentation graphique des réactions d'ordre est donnée par la Figure 1 :



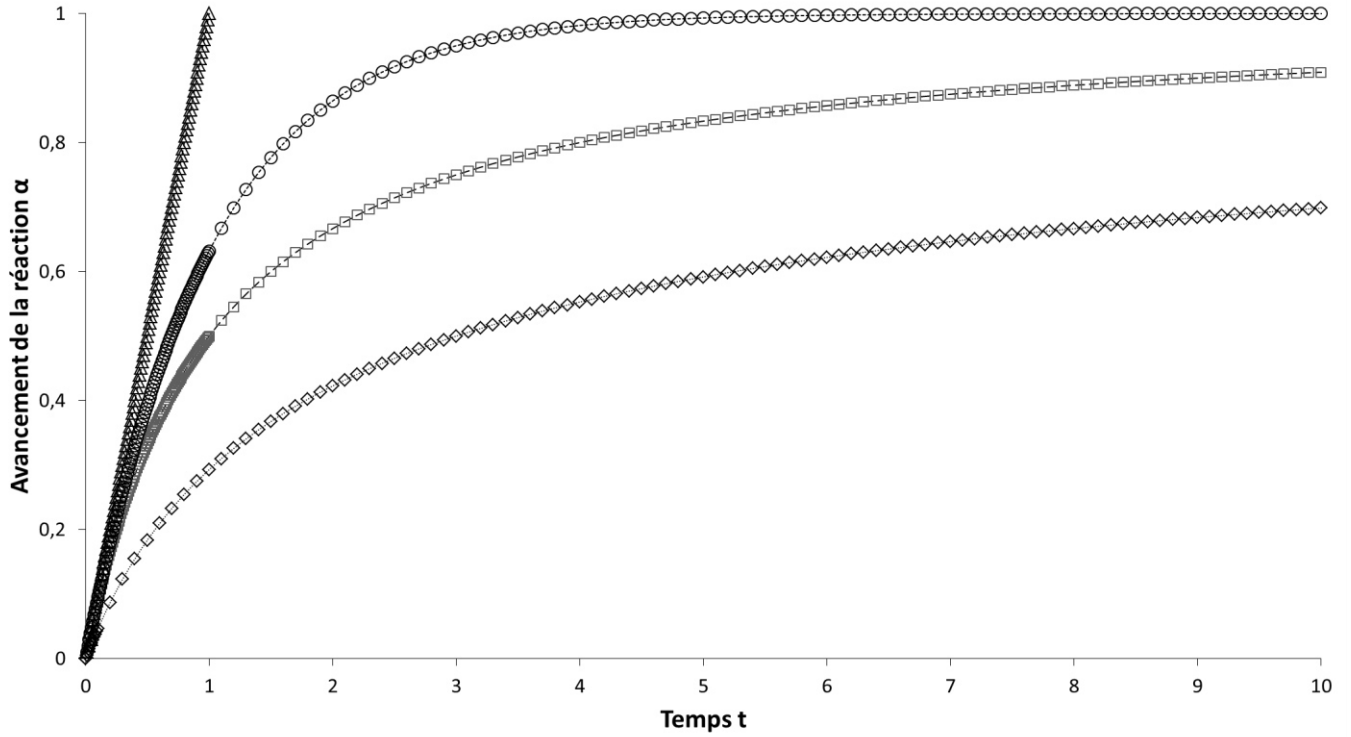


Figure 1a et 1b: vitesse des réactions d'ordre selon l'avancement α et avancement de la réaction en fonction du temps selon l'équation éq. 22. Δ réaction d'ordre 0 (n = 0); ○ réaction d'ordre 1 (n = 1) ; □ réaction d'ordre 2 (n = 2) ; ◊ réaction d'ordre 3 (n = 3).

L'équation éq. 22 permet de représenter mathématiquement la vitesse de la majeure partie des réactions de décomposition chimique en phase homogène. Dans le contexte de l'étude de la stabilité des médicaments en solution, ce modèle permet de suivre l'avancement et la dégradation des principes actifs solubilisés. En effet, en pharmaceutique, généralement une molécule est diluée dans un solvant aqueux homogène contenant du NaCl 0,9 % ou une solution glucosée de G5 %. Le principal mécanisme de décomposition dans ces conditions est l'hydrolyse aqueuse de la molécule. Cette réaction, d'ordre 1, est modélisable selon l'éq. 22. Parfois, deux molécules en solution, ou 3, peuvent interagir pour se transformer. L'équation éq. 22 permet toujours un suivi cinétique de telles réactions.

Il peut cependant exister des limites à l'usage de ce modèle. Il ne peut représenter des réactions réversibles dans le cas où la molécule dégradée revient à sa forme initiale. Il ne permet non plus la représentation des réactions complexes, dans les cas ou par exemple une molécule A est dégradée en B et C parallèlement. Dans ces deux cas, d'autres modèles spécifiques peuvent être appliqués. Une bonne connaissance des voies de dégradation chimique de la molécule est nécessaire pour en élucider les mécanismes et en suivre leur cinétique.

Ces modèles basés sur les ordres réactionnels sont les plus simples. Les mécanismes réactionnels ne font pas intervenir de phénomène physique et ou géométrique. Ainsi leur représentation mathématique s'en trouve simplifiée. Au contraire, en phase hétérogène, les mécanismes réactionnels font intervenir des phénomènes physiques à l'interface des phases individuelles. Une bonne compréhension de ces phénomènes physiques est nécessaire à leur description ainsi qu'à leur représentation mathématique.

4. Cinétique de dégradation chimique en phase hétérogène.

4.1 Introduction

La cinétique de dégradation chimique des médicaments en phase homogène a été précédemment présentée. Les réactions d'ordre 0, d'ordre 1 ; 2 et supérieure ont été décrites et modélisées. Ces réactions couvrent une majeure partie des cinétiques de dégradation médicamenteuse chimique notamment en phase liquide.

En phase liquide ou gazeuse, *i.e* homogène, l'étude de la cinétique d'une réaction s'oriente vers la recherche d'une constante de vitesse décrivant précisément un phénomène chimique. Cette constante est appliquée pour mesurer et décrire mathématiquement la progression d'une ou plusieurs réactions. En phase hétérogène, il est plutôt d'usage de rapprocher l'observation à un modèle mathématique vraisemblable dans la mesure où la caractérisation précise d'une réaction est souvent plus complexe à objectiver. En effet, les phénomènes de dégradation en phase solide étant des processus pouvant impliquer plusieurs étapes physiques ou chimiques, ceux-ci vont être décrits par un modèle mathématique représentant l'intégralité de telles transformations.

La chimie du XXème siècle n'a eu de cesse d'élucider les différents mécanismes réactionnels des phases hétérogènes, notamment en phase solide. À ce jour, pour étudier la stabilité des médicaments, une vingtaine de modèles mathématiques décrivant des phénomènes cinétiques sont décrits dans la littérature.

Au cours de cette partie, les principaux mécanismes réactionnels en phase solide utiles à la résolution générale de la problématique de ce travail sont introduits et décrits. Chaque mécanisme est mathématiquement modélisé et graphiquement représenté. Les modèles de réactions selon des ordres sont à nouveau présentés, puis les réactions de type nucléation, les réactions de diffusion et enfin les contractions géométriques. Tous ces modèles sont exposés, explicités et exprimés afin d'en saisir le sens physique, cinétique et mathématique.

4.2 Réactions d'ordre

En phase hétérogène, les mécanismes réactionnels basés sur les ordres de réaction, similaires à la phase homogène, peuvent survenir. Dans ce type de modèle, la vitesse de réaction est proportionnelle à la puissance d'une quantité de réactif. Cette puissance est l'ordre réactionnel. L'équation (22), présentée en « 3.5 Équation générale des modèles basés sur les ordres réactionnels et représentation graphique » permet de représenter mathématiquement ce type de réactions.

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(1-\alpha)^n$$

$d\alpha/dt$ étant la vitesse de réaction, k la constante de vitesse selon Arrhenius et n l'ordre de la réaction. La représentation graphique de cette équation est présentée en Figure 1.

S'ils peuvent décrire certaines réactions en phase solide, les modèles basés sur les ordres de réaction ne peuvent s'appliquer aux modifications au cours desquelles un phénomène physique intervient. C'est le cas des réactions de nucléation, dans lesquelles un cristal, à l'état solide, subit une ou plusieurs transformations physiques et chimiques par l'action d'un liquide ou d'un gaz sur sa surface.

4.3 Réactions de nucléation

Un cristal est une structure solide dont l'architecture atomique est périodiquement ordonnée dans trois dimensions. C'est un réseau dont les constituants (atomes, molécules ou ions) sont organisés et en équilibre thermodynamique entre formation et décomposition [4].

La décomposition physique ou chimique d'un de ces cristaux est induite en zones thermodynamiquement instables. En ces points, un désordre de la structure cristalline génère une instabilité. Ces localisations sont des zones d'imperfections : impureté, type de surface, bord, dislocation ou encore craquement. Ils sont nommés sites potentiels de nucléation. La réactivité y est augmentée. En recevant une quantité d'énergie faible, un nucléus peut y être activé et entrer en croissance, selon une cinétique modélisable. La décomposition d'un cristal suit également cette même cinétique.

La formation ou la décomposition cristalline ne sont pas les seuls phénomènes pouvant être modélisés par nucléation et croissance. Certaines décompositions thermiques suivent également cette cinétique. Par exemple, la décomposition thermique du perchlorate d'ammonium est modélisée par des phénomènes de formation et croissance d'un nucléus. D'autres phénomènes cinétiques sont décrits par des modèles de nucléation. C'est le cas des phénomènes de cristallisation, de transition cristallographique, de décomposition, d'adsorption, d'hydratation et de désolvation [5]-[6]-[7]-[8]-[9].

Trois types de modèles de nucléation sont décrits : (i) les réactions en puissance, (ii) le modèle de nucléation d'Avrami-Erofeyev et (iii) le modèle auto-catalytique de Prout-Tompkins.

Pour les saisir, les réactions de nucléation doivent être décomposées en deux phases : la formation d'un nucléus et la croissance de celui-ci. Les principaux mécanismes de nucléation et de croissance sont ainsi décrits ci-après.

4.3.1 Phénomène de nucléation

La première étape de formation ou de décomposition d'une structure est la « Nucléation », ou « Germination ». Homogène ou hétérogène, la nucléation consiste à la formation de *nuclei*, dont la taille (le nombre de constituants) est inférieure à la taille de croissance. La nucléation peut avoir lieu en une étape, ou en plusieurs.

4.3.1.1 Nucléation homogène en une étape

Lors d'une nucléation homogène, une décomposition moléculaire est considérée comme produisant systématiquement un nucléus stable et en croissance. De plus, une même probabilité de formation d'un nucléus est observée dans tout élément de volume ou de surface. Un nucléus est formé et croît de manière isotrope en une structure sphérique dont le diamètre et le volume augmentent avec le nombre de molécules incorporées. La nucléation homogène est induite à des emplacements dénombrables. Sp est le nombre de sites de nucléation potentiels. En nucléation homogène, la vitesse de formation de N *nuclei* est donnée par l'équation éq. 23:

$$\frac{dN}{dt} = k_1(Sp - N) \qquad \text{Eq. 23}$$

La forme intégrée à t compris entre 0 et + ∞ est données par l'équation éq. 24:

$$N = \mathrm{Sp}(1 - e^{-k_1 t}) \qquad \text{Eq. 24}$$

Où N est le nombre de *nuclei* formés au temps t, k_1 la vitesse de formation du nucléus identique à tous les *nuclei* en nucléation homogène et N_0 le nombre de sites potentiels de nucléation.

Plusieurs types de nucléations homogènes sont remarquables : la nucléation instantanée, la nucléation linéaire et la nucléation exponentielle.

En nucléation instantanée, lorsque k_1 est très élevée (*i.e* la vitesse de formation d'un nucléus est très rapide, la barrière énergétique d'induction de la réaction est faible), l'équation éq. 23 s'écrit selon éq. 25:

$$\frac{dN}{dt} = \partial(\mathrm{t})\mathrm{dt} \qquad \text{Eq. 25}$$

Cette équation est une fonction de Dirac. Elle prend une valeur infinie pour t = 0. La forme intégrée à t compris entre 0 et + ∞ est données par l'équation éq. 26 :

$$N = N_0 \qquad \text{Eq. 26}$$

La nucléation est instantanée.

En nucléation linéaire, lorsque k_1 est très faible, *i.e* la vitesse de formation d'un nucléus est lente, la cinétique de nucléation prend une allure de droite linéaire. En considérant que N(t) << N_0 à t = + ∞, l'équation éq. 23 peut s'écrire selon éq. 27 :

$$\frac{dN}{dt} = k_n N_0 \qquad \text{Eq. 27}$$

Dont l'équation éq. 28 est la forme intégrée pour t compris entre 0 et + ∞ :

$$N(t) = k_n N_0 t \qquad \text{Eq. 28}$$

De nombreuses nucléations sont homogènes, ou pseudo homogènes : un ou plusieurs mécanismes de nucléations sont prépondérants par rapport aux autres. Cependant, dans certains cas, plusieurs sites de nucléations co-existent, sans prépondérance et sans équivalence. La nucléation est alors dite hétérogène.

4.3.1.2 Nucléation hétérogène en une étape

En nucléation hétérogène, il est considéré que chaque site de formation potentielle de nucléus n'est pas égal. L'énergie libre d'activation ΔG° est différente selon la nature de l'anfractuosité. La vitesse de formation de nucléus varie selon le site. L'introduction d'une fonction de distribution de ΔG selon n_t est alors nécessaire à la modélisation des cinétiques réactionnelles. La vitesse de formation de nucléus sur un site de nucléation défini est donnée par l'équation éq. 29:

$$\frac{dn_t'}{dt} = C(N' - n'_t)exp^{\frac{-\Delta G'_n}{RT}} \qquad \text{Eq. 29}$$

L'éq. 29 est intégrée entre t_0 et t selon l'éq. 30 :

$$N' - n'_t = exp^{(-C_t exp^{\left(\frac{-\Delta G'_n}{RT}\right)})} \qquad \text{Eq. 30}$$

Dans lesquelle $\Delta G'_n$ est l'énergie d'activation de la nucléation sur le site spécifique n', C est une constante, N' le nombre total de sites potentiels de nucléation ayant une énergie d'activation $\Delta G'_n$, n'_t le nombre de nucléations au site n' et au temps t, R la constante des gaz parfaits et T la température en Kelvin. L'énergie $\Delta G'_n$ varie entre une valeur minimale ΔG^0_n et une valeur maximale ΔG^m_n. En spécifiant l'amplitude de ces valeurs selon l'équation éq. 31 :

$$\Delta G^m_n = \Delta G^0_n + \beta n_t \qquad \text{Eq. 31}$$

Et après intégration de l'équation éq. 30 avec les valeurs de l'éq. 31, n_t peut être exprimé selon l'éq. 32 :

$$n_t = N_0 B\, ln(t) + D \qquad \text{Eq. 32}$$

Où B, β et D sont des constantes.

Ainsi, lors d'une nucléation hétérogène, la vitesse de formation d'un nucléus va dépendre de sites de nucléation préférés, l'énergie d'activation ΔG de la réaction y étant différente selon le type

d'imperfection. Si la nucléation hétérogène est un phénomène en une étape, d'autres phénomènes de nucléation peuvent être réalisés en plusieurs étapes.

4.3.1.3 Nucléation en plusieurs étapes

Le concept de nucléation en plusieurs étapes fut proposé pour la toute première fois par Bagdassarian en 1945 dans la revue « Acta Physicochimie U.S.S.R » [10], puis développé par Allnatt et Jacobs [11]. Selon cette théorie, la formation et / ou la décomposition d'un nucléus est un processus dynamique comportant plusieurs étapes détaillées ci-après.

Pour croître et être actif, un site de nucléation doit comporter un certain nombre de molécules « p ». Au-delà de ces « p » molécules, le nucléus est en croissance active ; en deçà, le nucléus est inactif. La formation d'un nucléus est un processus dynamique au cours duquel le nombre de particules (n) doit, pour stabiliser la structure et amorcer sa croissance, être supérieur à un nombre de particules critiques (p). Lorsque $n < p$, la vitesse d'addition de molécules individuelles au nucléus est constante : k_i. Lorsque $n \geq p$, la vitesse d'incorporation de molécules au nucléus augmente à mesure que chaque molécule s'incorpore. Cette vitesse, notée k_p, est considérée comme supérieure à k_i. Si $n < p$, la croissance d'un nucléus est donc proportionnelle à k_i : vitesse de nucléation. Or, si $n > p$, la vitesse de croissance du nucléus s'accélère pour suivre une vitesse k_p.

Le descriptif mathématique de ce phénomène est un procédé de nucléation accélérée, dite « loi de puissance de nucléation » présentée par l'équation éq. 33 :

$$\frac{dN}{dt} = C\eta t^{\eta-1} \qquad \text{Eq. 33}$$

Où η est le nombre d'événements successifs nécessaires à la formation du noyau et C est une constante donnée par l'équation éq. 34:

$$C = \frac{N_0 (k_i)^{\eta}}{\eta!} \qquad \text{Eq. 34}$$

La forme intégrée de l'équation éq. 33 permettant de suivre l'évolution d'une population de *nuclei* dans le temps est donnée par l'équation éq. 35 :

$$N(t) = \frac{N_0(k_i t)^\eta}{\eta!} = C.t^\eta \qquad \text{Eq. 35}$$

N(t) = C.t^n est la loi de puissance de nucléation.

Ainsi, les principaux mécanismes de nucléation sont résumés dans le Tableau 2.

Tableau 2 : vitesses de nucléations et nombre de *nuclei* à temps défini pour les principales lois de cinétique de nucléation, d'après A.K. Galwey et M.E. Brown [11].

Loi de vitesse	Vitesse de nucléation (dN/dt)	Nombre de *nuclei* au temps t (N(t))
Exponentielle	$\frac{dN}{dt} = k_1(N_0 - N(t))$	$N(t) = N_0(1 - e^{-kt})$
Linéaire	$\frac{dN}{dt} = k_n N_0$	$N(t) = k_n N_0 t$
Instantanée	$\frac{dN}{dt} = \infty$	$N(t) = N_0$
Puissance	$\frac{dN}{dt} = C\eta t^{\eta-1}$	$N(t) = C.t^\eta$

Ainsi, un nucléus formé croîtra selon un ou des mécanismes dépendant de facteurs géométriques, physiques et chimiques.

4.3.2 Croissance du nucléus.

La cinétique de nucléation introduite, celle-ci permet de comprendre et de modéliser les phénomènes de croissance des *nuclei*. Après l'induction de la nucléation, les *nuclei* générés vont s'étendre, s'élargir, fusionner, croître. La croissance des *nuclei* est un phénomène physique observable.

En microscopie, le changement de textures accompagnant les *nuclei* en croissance peut être objectivé. La décomposition est souvent associée à une perte de produits volatils et apparition de craquements visibles en surface. La vitesse de croissance du nucléus en est mesurable et modélisable selon l'équation éq. 36 :

$$\frac{dr}{dt} = k_g(t - t_0) \qquad \text{Eq. 36}$$

où r est une dimension linéaire du nucléus au temps t et k_g est la vitesse de croissance du nucléus après t_0.

Deux paramètres permettent de décrire géométriquement et modéliser la croissance d'un nucléus. Le paramètre de dimension, et le paramètre de forme.

Le nucleus peut croitre dans toutes les directions de l'espace. La dimension de la croissance est notée λ. C'est un entier compris entre 1 et 3. Lorsque l'espace le permet, la croissance se fait en 3 dimensions. Si l'espace est restreint, ou si d'autres contraintes s'appliquent au nucléus, l'expansion est confinée : λ sera en 2 dimensions voire 1 dimension.

Le paramètre de forme, noté σ, permet de décrire la géométrie de la structure formée par la croissance du nucléus. Pour une sphère par exemple, le paramètre de forme sera égal à 4π/3. Pour un hémisphère, il sera égal à 2π/3.

Lors d'une croissance non restreinte, un nucléus, au temps t, occupe le volume selon l'équation éq. 37 :

$$v(t, t_0) = \sigma[r(t, t_0)]^{\lambda} \qquad \text{Eq. 37}$$

Dans laquelle la dimension linéaire du nucléus, $r(t,t_0)$ est donnée par l'équation éq. 38:

$$r(t, t_0) = \int_{t_0}^{t} F(t)dt \qquad \text{Eq. 38}$$

F(t) étant la vitesse de croissance du nucléus.

La vitesse de croissance $v(t, t_0)$ est donc décrite par l'équation éq. 39 :

$$v(t, t_0) = \sigma \left[\int_{t_0}^{t} F(t) dt \right]^{\lambda} \qquad \text{Eq. 39}$$

v(t, t_0) étant le différentiel de volume de tous les *nuclei* entre t_0 et t.

La croissance d'un nucléus peut se faire dans toutes les directions de l'espace. Lorsque les vitesses de croissance diffèrent en fonction de la direction, celles-ci sont représentées par les constantes $k'_g(x)$, $k''_g(y)$ et $k'''_g(z)$, pour des directions en x, y et z. Ces trois vitesses varient selon l'avancement de la réaction.

Si les vitesses de croissance pour chaque dimension sont différentes, l'équation éq. 39 s'écrira donc selon éq. 40 :

$$v(t, t_0) = \sigma \left(\iiint_{t_0}^{t} k'_g(x) k''_g(y) k'''_g(z) dx dy dz \right) \qquad \text{Eq. 40}$$

La modélisation des phénomènes combinés de nucléation et de croissance se fera en insérant les équations de nucléations primaires dans l'équation éq. 40 de croissance et en intégrant celles-ci.

Soit α, la fraction d'avancement de la réaction. Celle-ci est ici exprimée selon v(t,t_0) le volume de croissance de tous les *nuclei* entre t_0 et t, et Vf le volume final lorsque la réaction est complète. Cette expression est donnée par l'équation éq. 41.

$$\alpha = \frac{V(t)}{Vf} \qquad \text{Eq. 41}$$

À partir des formules éq. 40 et éq. 41, différentes cinétiques et mécanismes réactionnels de nucléation – croissance sont proposés dans la littérature. Parmi les modèles, trois majoritaires et bien décrits sont présentés par la suite : les lois (i) de croissance en puissance des *nuclei*, (ii) d'Avarami-Erofeyev et (iii) d'auto-catalyse (Prout-Tompkins).

4.3.2.1 Loi de puissance

Les formules éq. 40 et éq. 41 modélisent les phénomènes de nucléation et croissance, ainsi que α la fraction d'avancement de la réaction. Les équations combinées et intégrées vont aboutir à des modèles cinétiques ayant comme structure mathématique f(α) = kt.

La décomposition d'une surface cristalline par nucléation et croissance peut se faire simplement par formation d'un hémisphère. Lorsque la nucléation de N sites et leur croissance se font instantanément, dans toutes les directions de l'espace, en structures hémisphériques (dont le paramètre de forme est égal à 2π/3), le volume total au temps t est modélisé selon l'équation éq. 42 :

$$V(t) = \left(\frac{2\pi N}{3}\right)\left(k_g t\right)^{\lambda} \qquad \text{Eq. 42}$$

Avec λ = 3, le paramètre de dimension, k_g la vitesse de croissance de la structure et σ = 2π/3 le paramètre de forme, issu de la formule de volume d'un hémisphère ($2\pi r^3/3$).

Si la nucléation continue au cours d'une réaction en plusieurs étapes, celle-ci sera accélérée selon la valeur de η selon les équations éq. 33 et éq. 35. Plus simplement, en combinant les formules éq. 33, éq. 35 et éq. 42, la loi de puissance est exprimée selon l'équation éq. 43 :

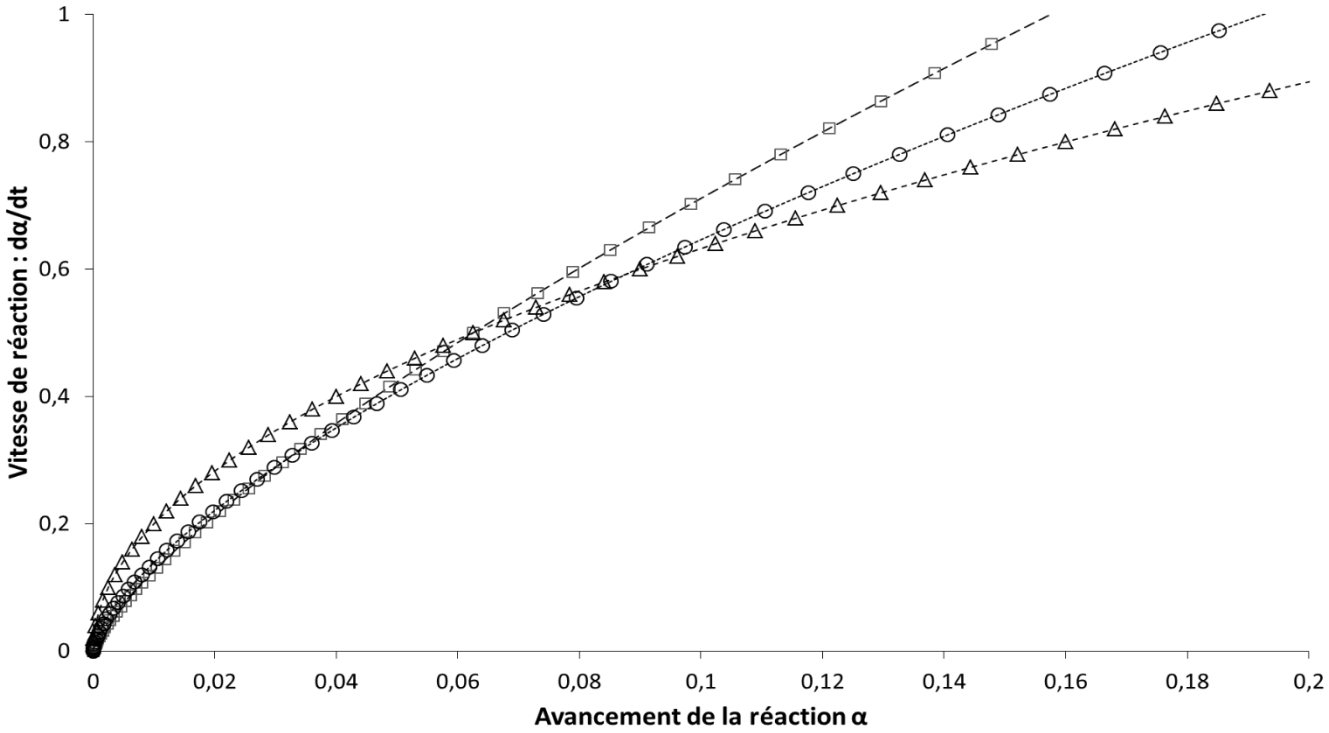
$$\alpha^{\frac{1}{n}} = kt \qquad \text{Eq. 43}$$

Avec : $k = (\frac{\sigma C k_g{}^{\lambda}}{V_0})^{\frac{1}{n}}$ et $n = \lambda + \eta$ d'après l'équation éq. 33 de nucléation. Ce phénomène accéléré est objectivé plus fréquemment en début de réaction, lorsque l'hypothèse d'une croissance sans restriction du nucléus est acceptable. L'expression de l'avancement de la réaction en fonction du temps et de la vitesse est présentée par le modèle éq. 44 :

$$\alpha = (kt)^n \qquad \text{Eq. 44}$$

C'est l'équation de Loi de Puissance. La loi de puissance est un modèle adapté à la description, par exemple, de la réaction de décomposition de l'azoture de baryum [12] ou encore de l'alun de chrome [13].

La représentation graphique des réactions de nucléation selon une loi de puissance est donnée par la Figure 2, pour des valeurs de n = 1 ; n = 2 et n = 3.



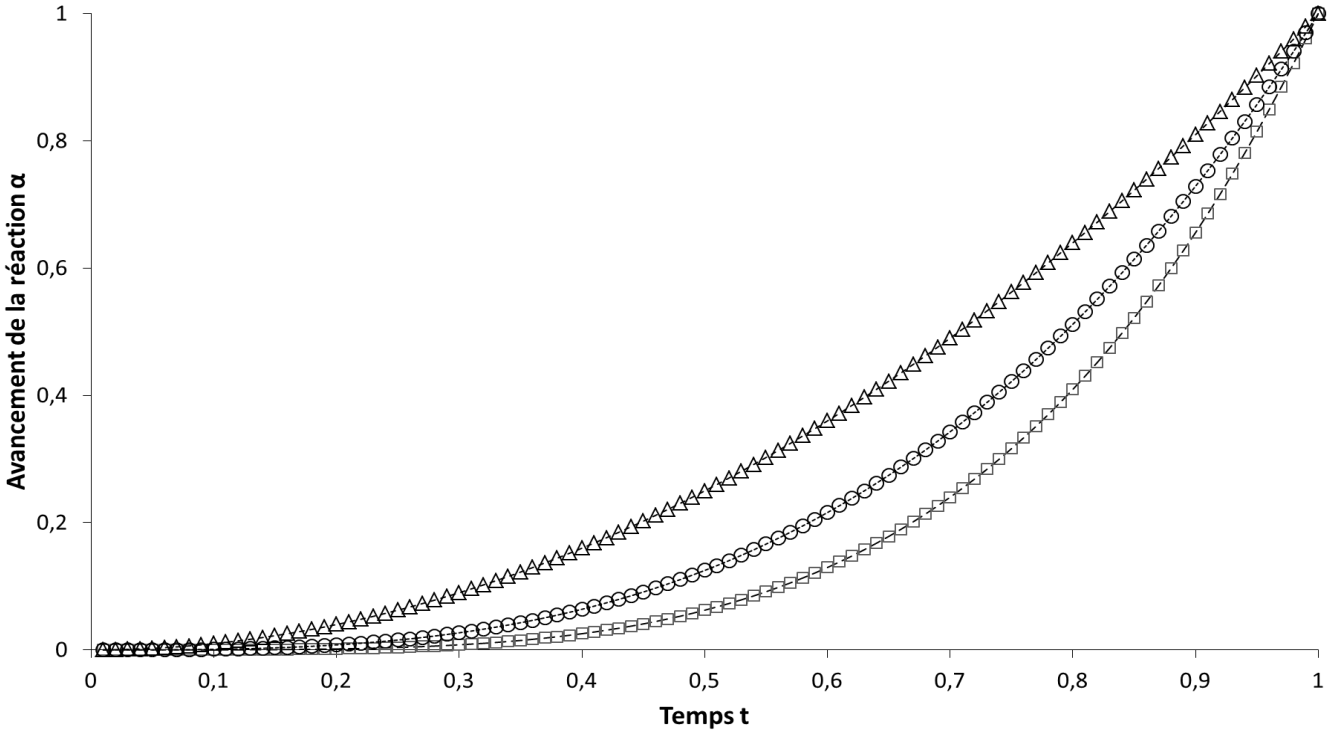


Figure 2a et 2b : représentation graphique des vitesses des réactions de nucléation en puissance selon l'avancement α et avancement de la réaction en fonction du temps selon l'équation éq. 44. Avec Δ pour n = 1 ; ○ pour n = 2 et □ pour n = 3.

Ce modèle permet la description des réactions de nucléation et croissance qui évoluent linéairement dans toutes les directions de l'espace, sans contraintes ni restrictions. Cependant, des contraintes spatiales peuvent mener à différentes formes de nucléus ou une orientation vers certaines directions. De phénomènes d'ingestion et de coalescence peuvent également advenir. Ces phénomènes sont décrits par Avrami-Erofeyev.

4.3.2.2 Loi de nucléation d'Avrami-Erofeyev, ou JMAEK

La loi de puissance décrit la cinétique de nucléation et de croissance isotrope d'un nucléus. Celle-ci part du postulat qu'un nucléus croîtra sans restriction en toutes directions de l'espace.

Or, il peut s'appliquer des contraintes réduisant la vitesse de croissance dans une, ou plusieurs dimensions. De plus, un nucléus croîtra jusqu'à rencontrer un autre nucléus. Alors, les deux *nuclei* interagiront soit par (i) coalescence : l'un des nucléus s'adsorbera à la surface de l'autre, soit par (ii) ingestion : l'un des nucléus sera absorbé par l'autre.

Lors d'une coalescence, deux *nuclei* en croissance vont s'adsorber l'un avec l'autre. Les deux sites continueront à croître. La croissance de chaque site sera cependant limitée au niveau de l'interface des deux *nuclei*.

Lors d'une ingestion, l'un des nucléus en croissance est éliminé et ingéré au profit d'un second nucléus. Le site ingéré est alors qualifié de « fantôme » : sa croissance est figée. Par conséquent, le nombre possible de sites de nucléation évolue dans le temps.

L'évolution de N_1 le nombre de sites de nucléation activables, est donnée par l'équation éq. 45 :

$$\frac{-dN_1}{dt} = dN + dN_2 \qquad \text{Eq. 45}$$

Dont la forme intégrée est le modèle éq. 46 :

$$N_1(t) = N_0 - N(t) - N_2(t) \quad \text{Eq. 46}$$

Où N_0 est le nombre de sites potentiels de nucléations initiales, $N_1(t)$ le nombre de sites activables au temps t, N(t) le nombre de sites déjà activés au temps t et $N_2(t)$ le nombre de sites ingérés et éliminés.

Soit α' la fraction d'avancement théorique de la réaction, sans aucune interférence. α' diffère de α, la vraie valeur. Avrami propose, dans le cas d'une croissance simple en 3 dimensions d'un nucléus distribué aléatoirement sur un grand cristal, une relation entre α' et α [14]. Cette relation est acceptable si les conditions ci-dessous sont validées :

- ✓ Lorsque α = 0, alors dα/dt = dα'/dt
- ✓ Lorsque α = 1, alors dα/dt = 0 mais dα'/dt est terminée.

La vitesse est identique au départ, mais la réaction en condition non contrainte se termine avant celle en condition contrainte.

Alors l'équation éq. 47 et sa forme intégrée éq. 48 peuvent modéliser la nucléation, tenant compte d'éventuelles ingestions et/ou coalescences :

$$d\alpha = d\alpha'(1 - \alpha) \quad \text{Eq. 47}$$

$$-\ln(1 - \alpha) = \alpha' \quad \text{Eq. 48}$$

L'équation éq. 47 combinée à la loi de puissance de la formule éq. 44, donne l'éq. 49 :

$$[-\ln(1 - \alpha)]^{1/n} = k(t - t_0) \quad \text{Eq. 49}$$

Le modèle éq. 47 a également été mis en évidence par Erofeyev selon une approche plus généraliste [15]. Soit P, la probabilité moyenne qu'une molécule individuelle entre en nucléation et croissance. P peut s'exprimer selon α, comme dans l'équation éq. 50 :

$$\frac{d\alpha}{dt} = P(1-\alpha) \qquad \text{Eq. 50}$$

Si P est une constante notée K, la forme intégrée de α peut s'exprimer alors selon l'équation éq. 51:

$$\alpha = 1 - e^{-Kt} \qquad \text{Eq. 51}$$

C'est l'équivalent du modèle d'Avrami-Erofeyev

Tableau 3: Loi de nucléation selon "n" de l'équation d'Avrami-Erofeyev.

n = η + λ	Loi de nucléation	η : paramètre de forme	λ : paramètre de dimension
> 4	Puissance	2 ou 3	3
4	Linéaire	1	3
4 > n > 3	Exponentielle	0/1	3
3	Instantanée	0	3
	Linéaire	1	2
2,5	Exponentielle	0/1	2
2	Instantanée	0	2
	Linéaire	1	1
1	Instantanée	0	1

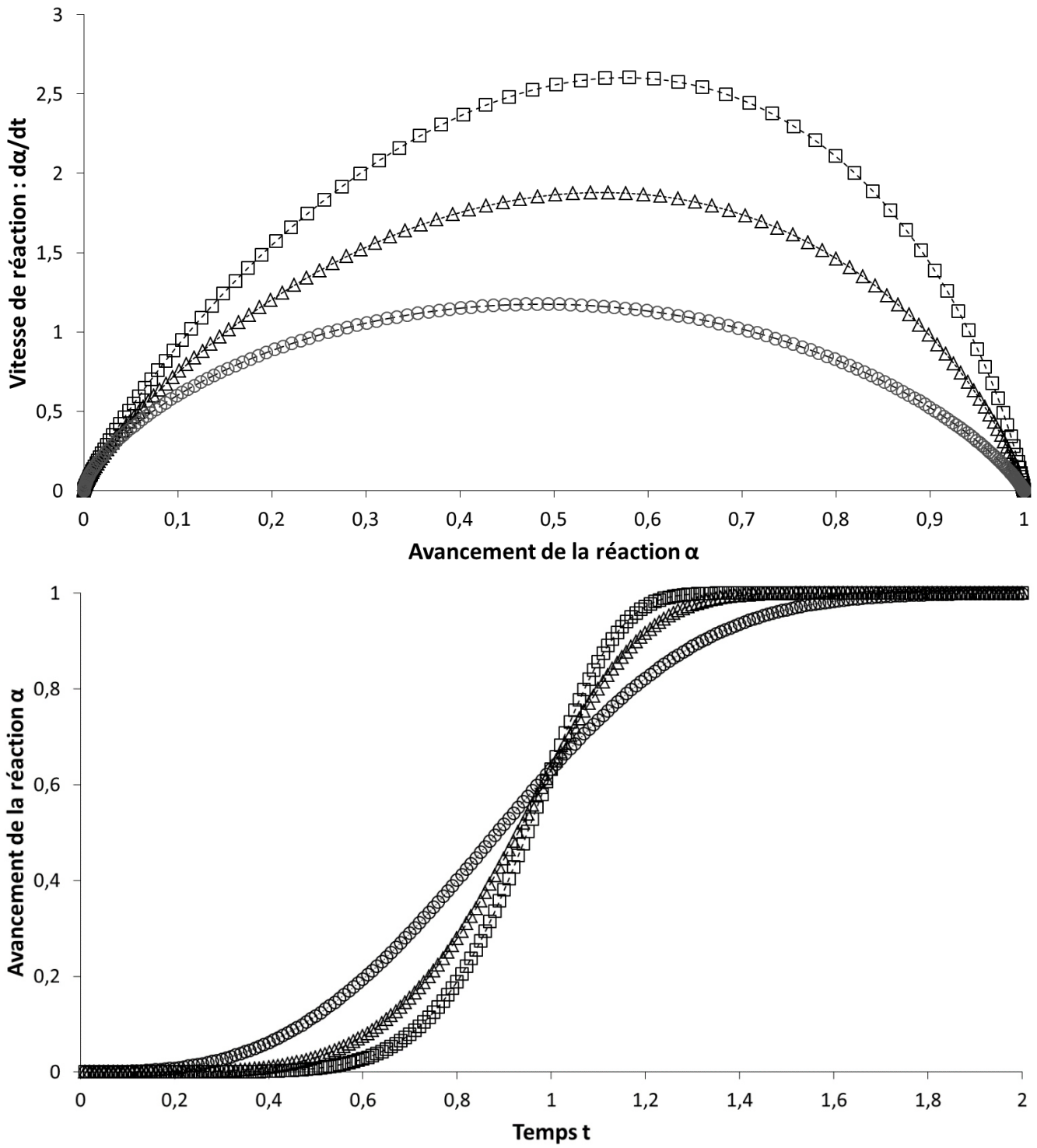


Figure 3a et 3b : représentation graphique des vitesses des réactions de nucléation d'Avrami-Erofeyev selon l'avancement α et avancement de la réaction en fonction du temps selon l'équation éq. 51. Avec ○ pour n = 3 ; Δ pour n = 5; et □ pour n = 7.

Généralement, dans la littérature, ce modèle porte le nom de modèle JMAEK : Johnson-Mehl-Avrami-Erofeyev-Kholmogorov, d'après les cinq personnes qui ont pu l'enrichir.

L'aspect de la courbe modélisée par le modèle JMAEK aura une allure différente selon la valeur du paramètre « n ». La loi de nucléation applicable selon « n » de l'équation d'Avrami-Erofeyev est présenté Tableau 3. Les représentations graphiques pour différentes valeurs de « n » sont présentées Figure 3.

Le modèle d'Avrami-Erofeyev permet une modélisation adéquate de nombreuses réactions de cristallisation de solides amorphes [16]. Cependant, il ne peut représenter toutes les cinétiques de cristallisation [17]. D'autres modèles de nucléation sont décrits dans la littérature.

4.3.2.3 Auto-catalyse : modèles de Prout-Tompkins

Décrite précédemment, la loi de puissance décrit des réactions de nucléation rapides, exponentielles, parfois instantanées. Celle d'Avrami-Erofeyev décrit des réactions de croissance mono, bi ou tri-directionnelle des *nuclei*. Ces deux modèles trouvent leurs limites dans le cas des réactions ayant des mécanismes de nucléations ramifiées.

Le modèle proposé E.G Prout et F.C Tompkins représente les réactions de nucléations ramifiées. Soit l'équation éq. 52 décrivant la fraction d'avancement α d'une réaction de nucléation ramifiée sans restriction de croissance :

$$\alpha = ke^{k_b t} \qquad \text{Eq. 52}$$

Dans laquelle k_b est la vitesse de la réaction de nucléation ramifiée.

Si cette réaction est limitée et restreinte, un paramètre de fin de réaction k_T, mesurant la probabilité de fin de la réaction peut être introduit dans l'équation éq. 52. De plus, ce paramètre de probabilité de fin de réaction k_T, en toute logique doit augmenter proportionnellement à l'avancement de la réaction α. Ce postulat est modélisé par l'éq. 53, la vitesse de nucléation dN/dt d'une telle réaction :

$$\frac{dN}{dt} = k_N N_0 + N\,[k_b - k_T] \qquad \text{Eq. 53}$$

Avec N, le nombre de nucléus engagés dans la réaction. Si k_n est très faible, $k_n N_0$ peut être négligé dans l'éq. 53. Celle-ci s'approxime selon l'éq. 54:

$$\frac{dN}{dt} = N\,[k_b - k_T] \qquad \text{Eq. 54}$$

La vitesse de la réaction dα/dt est proportionnelle au nombre de nucléus engagés N selon l'équation éq. 55 :

$$\frac{d\alpha}{dt} = \mathrm{k'N} \qquad \text{Eq. 55}$$

En étudiant la décomposition du permanganate de potassium, Prout et Tompkins mettent en évidence un aspect sigmoïdal de la courbe d'avancement α de la réaction. Ils en déduisent la présence d'un point d'inflexion $\alpha_i t_i$ a partir duquel dN/dt change de signe :

$$k_T = k_b(\frac{\alpha}{\alpha_i}) \qquad \text{Eq. 56}$$

En combinant les équations éq. 54, éq. 55 et éq. 56 on obtient éq. 57 et sa forme intégrée l'éq. 58:

$$\frac{dN}{d\alpha} = k''\,[1 - \frac{\alpha}{\alpha_i}] \qquad \text{Eq. 57}$$

$$N = k''\,[\alpha - \frac{\alpha^2}{2\alpha_i}] \qquad \text{Eq. 58}$$

Avec k'' = kb/k.

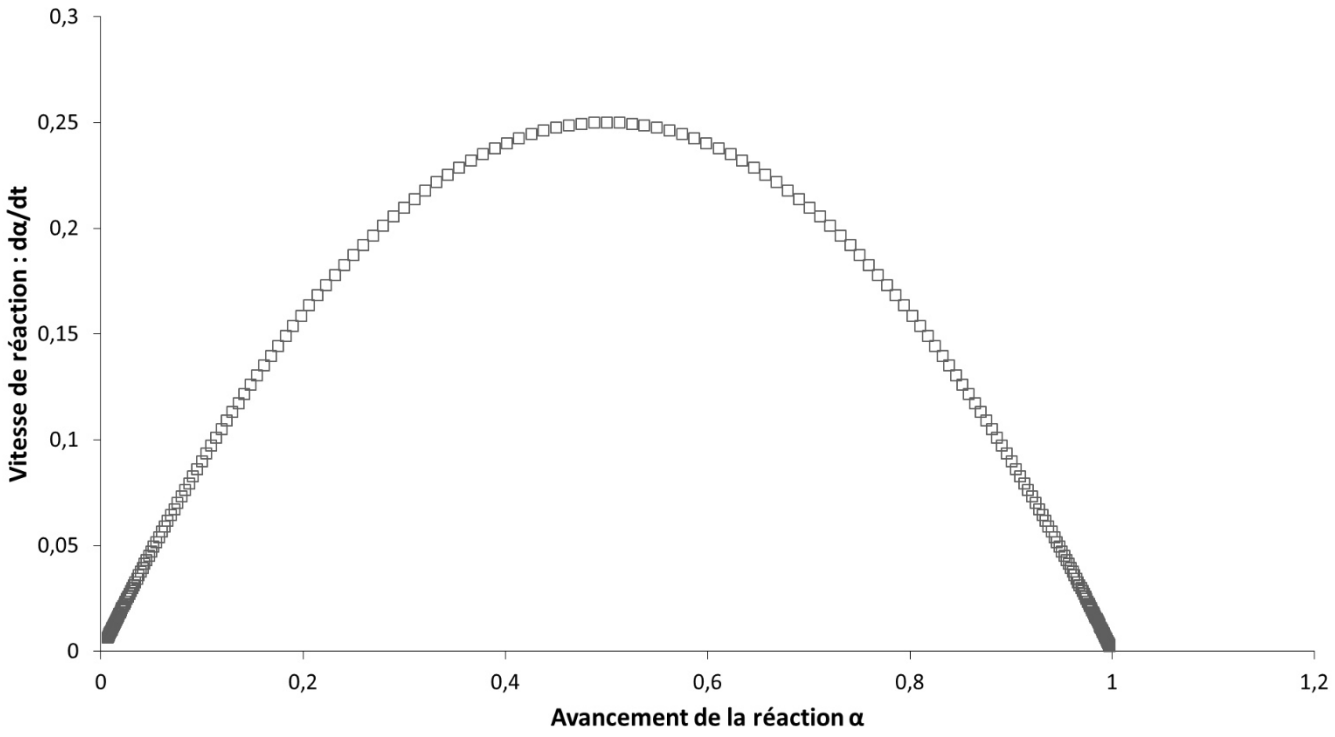
Prout et Tompkins proposent alors une simplification : α_i prendrai pour valeur $\alpha_i = 0{,}5$

Ainsi, les équations combinées éq. 55 et éq. 58 ont pour forme dérivée puis intégrée les équations éq. 59 et éq. 60 :

$$\frac{d\alpha}{dt} = k_b\alpha(1-\alpha) \qquad \text{Eq. 59}$$

$$\ln\left(\frac{\alpha}{1-\alpha}\right) = k_b t + c \qquad \text{Eq. 60}$$

C'est le modèle de Prout-Tompkins, ou modèle auto-catalytique. La représentation graphique de ce modèle est proposée en Figure 4. Le paramètre d'intégration C permet de résoudre la problématique liée aux réactions pour lesquelles α < 0,5 en corrigeant les positions des sigmoïdes dans les cas ou les résolutions de l'équation donneraient des valeurs de t négatives.



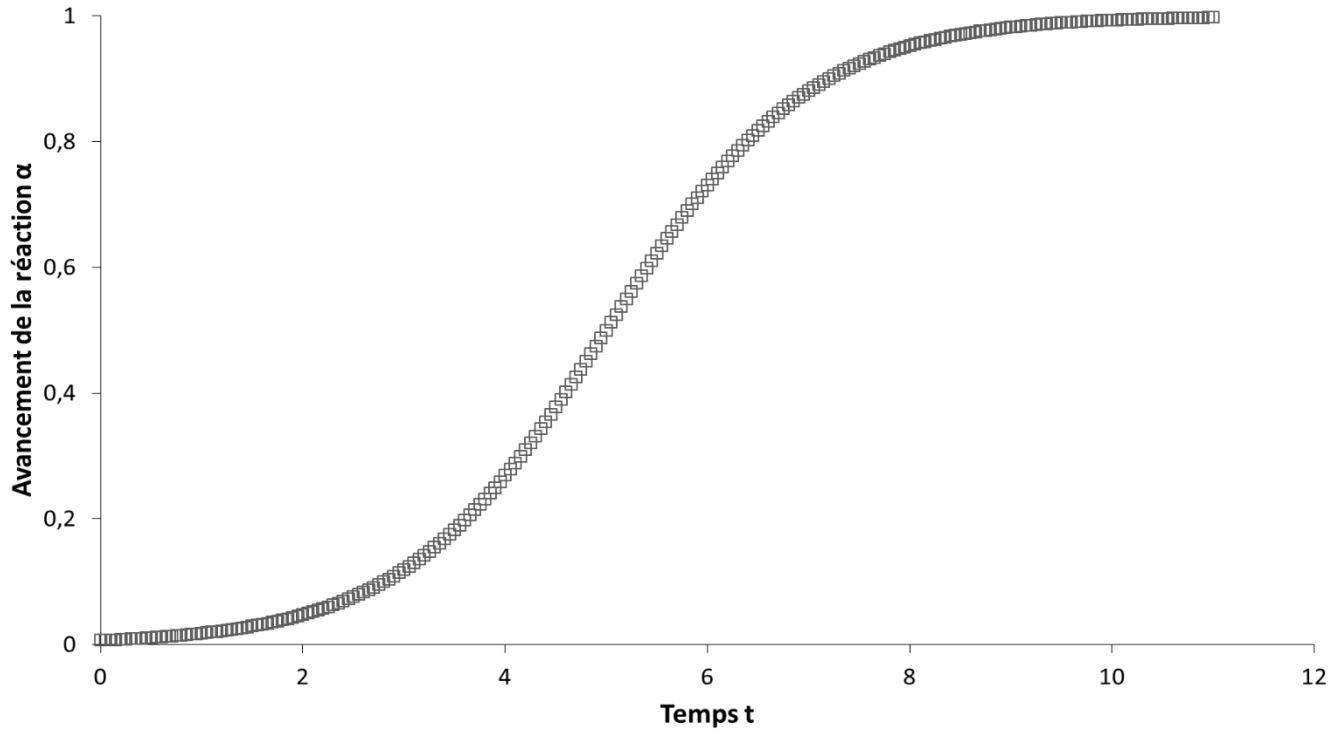


Figure 4a et 4b: représentation graphique des vitesses des réactions de nucléation de Prout-Tompkins selon l'avancement α et avancement de la réaction en fonction du temps selon l'équation éq. 60.

Prout et Tompkins modélisèrent en 1944 la cinétique de dégradation du $KMnO_4$ selon l'équation éq. 60 [18]. Elle est adaptée à la description de nombreux phénomènes de cinétique en phase solide. Cette description est également applicable à l'étude de la stabilité de médicaments ainsi qu'à la modélisation et à la prédiction des durées de conservations des formulations pharmaceutiques [19].

La modélisation des phénomènes de cinétiques en phase solide de type auto-catalytiques, accélérés et JMAEK permet une représentation mathématique d'une majeure partie des réactions de germination et de croissance lors de nucléations. Ces réactions ont lieu dans des zones définies, où une contrainte physique ou chimique induit une augmentation locale de la réactivité. Ces zones de réactivité induite se font préférentiellement à des points d'imperfection d'une structure solide ordonnée, *e.g.* impureté, altération de surface, type de surface, bordure, dislocation, craquement. Ces modèles sont adaptés à la représentation des cinétiques chimiques de croissance ou de décomposition cristalline, mais également de nombreux phénomènes chimiques et physiques : transition cristallographique, décomposition, adsorption, hydratation, désolvatation. Parfois, une vitesse de réaction n'est pas régulée par la réaction en elle-même, mais par d'autres phénomènes physiques ou chimiques. Il en est ainsi des réactions contrôlées par la diffusion qui sont abordées *postea*.

4.4 Réactions de diffusion

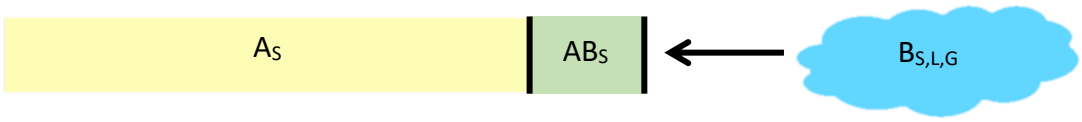
4.4.1 Introduction

La terminologie de « diffusion chimique » englobe tout phénomène conduisant au déplacement d'atomes ou de molécules d'un milieu à un autre, ou à travers un milieu. Le phénomène chimique de diffusion tend à rendre le milieu étudié homogène, *i.e* thermodynamiquement stable.

En phase solide, la mobilité d'un atome ou d'une molécule à travers un milieu est possible grâce à des points de défaut de ce milieu. Ces défauts peuvent prendre la forme physique d'emplacements libres ou d'interstices dans un solide. Par activation thermodynamique, un atome ou une molécule migre d'un point libre à un autre, à travers la structure solide. La résultante de ces migrations est la diffusion d'un composé dans, et au travers, un milieu. La vitesse de migration dépendra du milieu traversé, du composé traversant, de la pression, de la température, et de toute impureté pouvant

accélérer ou ralentir le phénomène. De nombreuses réactions chimiques en phase solide impliquent une étape de diffusion. Cette étape de diffusion régule la vitesse de la réaction.

Pour les décrire, nous introduirons A, un solide noté A_s, et B, un composé solide, liquide ou gazeux, noté $B_{S,L,G}$. Une réaction entre A_s et $B_{S,L,G}$ nécessitant la diffusion de A dans B, ou de A et/ou de B à travers une couche barrière AB_S est schématisée ci-après :

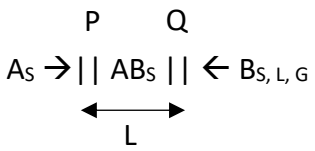


La vitesse et le maintien d'une telle réaction requièrent la diffusion de B à travers un milieu AB, ainsi que le maintien de AB. La description cinétique de ce type de réaction intègre les vitesses de diffusion de A et/ou de B à travers la couche barrière AB, ainsi que les éventuelles modifications géométriques résultantes. L'étape de diffusion peut conditionner la vitesse d'une réaction. Pour exemple, les vitesses des réactions de déshydratation des cristaux de [$CaSO_4$, $2H_2O$] ou encore de [$CaHPO_4$, $2H_2O$] sont contrôlées par un phénomène préalable de diffusion [20] [21].

La description et la modélisation des phénomènes de diffusion proposées par la suite permettent une description mathématique des vitesses des mécanismes réactionnels en phase solide, et particulièrement les cinétiques de réaction régulées par une diffusion sur 1 dimension, 2 dimensions et 3 dimensions.

4.4.2 Diffusion sur 1 dimension – Loi parabolique

Lors d'une réaction se déroulant dans une zone constante dans laquelle la cinétique évolue de manière proportionnelle à l'épaisseur d'une barrière, l'avancement de la réaction s'exprime selon l'équation dire équation parabolique. C'est une équation de diffusion en 1 dimension qui décrit une réaction entre un solide A et une molécule B. Soit B réagissant avec A en formant une couche |AB|, d'épaisseur L se déposant sur le solide A. La molécule B sous forme liquide, solide ou gazeuse, diffuse à travers la couche déposée |AB| pour réagir avec A.



La rouille est un exemple probant de ce type de réaction : un solide, le fer, réagit avec l'air et l'eau, un gaz et un liquide, pour former un composé oxydé déposé en surface du solide.

L'évolution de l'épaisseur d'une couche AB formée par une particule B diffusant à travers cette couche AB, d'épaisseur L, de Q vers P peut être donnée par l'éq. 61 :

$$\frac{dL}{dt} = -\mathrm{D}\frac{M_{AB}}{M_B\rho}\frac{dC}{dx} \qquad \text{Eq. 61}$$

Avec dL/dt l'évolution de la largeur de la membrane AB selon t, D le coefficient de diffusion de B à travers AB, ρ la densité de AB, M_{AB} et M_B les masses molaires de AB et B, dC/dx la concentration de B dans AB et x la distance parcourue par la particule B dans AB depuis Q. Logiquement la concentration de B dans AB entre P et Q doit être linéaire. dC/dx évoluer selon l'équation éq. 62 :

$$\frac{dC}{dx_{x=L}} = -\frac{(C_2-C_1)}{L} \qquad \text{Eq. 62}$$

En combinant les équation éq. 61 et éq. 62 puis intégrant, on obtient l'éq. 63 :

$$L^2 = \frac{2D[M_{AB}(C_2-C_1)]}{M_B\rho}t = kt \qquad \text{Eq. 63}$$

Avec L^2 le carré de l'épaisseur de la membrane |AB|, D le coefficient de diffusion de B à travers |AB|, C_2 - C_1 le différentiel de concentration de B de chaque côté de la membrane |AB|, ρ la densité de AB, et M_{AB} et M_B les masses molaires de AB et B. L'avancement de la réaction en 1 dimension est directement proportionnel à l'épaisseur de la couche AB à traverser. L'épaisseur elle-même est fonction du coefficient de diffusion D de B dans AB, des masses molaires de B et AB, et de la densité de AB.

En considérant que l'épaisseur L de la membrane formée par AB est proportionnelle à l'avancement de la réaction, α est décrit par l'éq. 64.

$$\alpha = (k_d t)^{\frac{1}{2}} \qquad \text{Eq. 64}$$

La loi parabolique permet la description des phénomènes cinétiques de réactions contrôlées par une diffusion sur 1 dimension, k_d étant la constante de vitesse de réaction pour une surface plane infinie. D'autres phénomènes de diffusion sur 2 ou 3 dimensions peuvent également imposer une cinétique réactionnelle.

4.4.3 Diffusion sur 2 dimensions

L'étude de la déshydratation thermique de cristal de kaolinite ($Al_2Si_2O_5(OH)_4$) par J. Holt, I. Cutler et M. Wadsworth, publiée en 1966, permet la représentation mathématique de phénomènes cinétiques de réaction contrôlée par une diffusion en 2 dimensions [22].

L'équation éq. 65 permet de modéliser la vitesse de l'avancement de la réaction α :

$$(1-\alpha)\, ln(1-\alpha) + \alpha = kt \qquad \text{Eq. 65}$$

Dans laquelle k est une constante de vitesse dépendante des paramètres donnés par l'équation éq. 66 :

$$k = \frac{4\lambda^2 k'}{{r_0}^2} \qquad \text{Eq. 66}$$

Ici, λ est le diamètre de diffusion des espèces à travers le cristal et r_0 le rayon du cristal. Les modèles de diffusion en 2D peuvent décrire certains phénomènes réactionnels. Cependant, le modèle de diffusion 3D -dit de Jander- est plus fréquemment observé. Il permet une modélisation plus exhaustive des réactions chimiques dont la cinétique est contrôlée par la diffusion.

4.4.4 Diffusion 3D – Modèle de Jander

La cinétique d'avancement d'une réaction en phase solide dont la vitesse de réaction est limitée par un phénomène de diffusion en 3 dimensions est décrite par un modèle dit de diffusion 3D, également appelé modèle de Jander [23].

Considérant l'avancement d'une réaction en fonction de son bilan massique, comme proposé selon l'équation éq. 67 (considérant $m_\infty \approx 0$) :

$$\alpha = \frac{m_0 - m_t}{m_0} \qquad \text{Eq. 67}$$

Où m_0 est la masse de produit au temps t = 0 et m_t la masse de produit au temps t.

Soit une réaction, initiée rapidement et étendue sur toute la surface d'une structure géométrique tridimensionnelle de paramètre « a » (« a » étant le rayon d'une sphère, le rayon d'un cylindre ou le bord d'un carré).

Prenons l'exemple d'une sphère : le volume de cette structure géométrique est égal à $4\pi a^3/3$ tandis que sa masse est égale à son volume, multipliés par la masse volumique ρ ; « $m = \rho.V = \rho.4\pi a^3/3$ ».

En intégrant ces paramètres, l'équation éq. 67 s'écrit alors éq. 68 :

$$\alpha = \frac{\frac{4}{3}\pi\rho {a_0}^3 - \frac{4}{3}\pi\rho {a_t}^3}{\frac{4}{3}\pi {a_0}^3} = \frac{{a_0}^3 - {a_t}^3}{{a_0}^3} \qquad \text{Eq. 68}$$

Lors d'une réaction de diffusion, après un temps « t » de réaction, le rayon de la structure sera modifié, augmenté ou diminué selon le type de réaction, d'une couche d'épaisseur L.

L'équation éq. 69 modélise l'avancement de cette réaction :

$$\alpha = \frac{{a_0}^3 - (a_0 - l)^3}{{a_0}^3} \qquad \text{Eq. 69}$$

Cette équation peut être réarrangée selon l'équation éq. 70 :

$$l = a_0(1 - (1 - \alpha)^{\frac{1}{3}})$$ Eq. 70

L'épaisseur de la couche L formée est proportionnelle à l'avancement de la réaction. Enfin, combinant l'équation éq. 70 au modèle parabolique de l'équation éq. 64, celle-ci devient l'équation éq. 71, c'est-à-dire le modèle de Diffusion D3 de Jander:

$$(1 - (1 - \alpha)^{\frac{1}{3}})^2 = k_g t$$ Eq. 71

Où kg = k/a_0^2.

Si elle décrit certaines réactions avec une bonne précision, la loi de Jander est considérée comme trop simplifiée, et donc peu précise. Ginstling et Brounshtein démontrent que ce modèle, du fait de l'utilisation de la loi parabolique, une loi de diffusion sur 1 dimension, ne fonctionne que pour des faibles surfaces réactionnelles (L <<< R) [24]. Si la réaction est plus importante, il convient d'utiliser pour le modèle la loi de diffusion radiale de Fick. L'équation de diffusion devient alors le modèle éq. 72 :

$$1 - \frac{2}{3}\alpha - (1 - \alpha)^{\frac{2}{3}} = kt$$ Eq. 72

Également appelée équation de Ginstling-Brounshtein. Ce modèle permet la description mathématique précise de cinétiques de réactions régulées par une diffusion en 3 dimensions. L'équation est applicable pour tout volume de surface réactionnelle.

Ce modèle cependant néglige l'effet des imperfections sur une structure tridimensionnelle. Quel serait l'impact d'une modification quelconque de surface, de phase, une déformation locale, ou la présence d'impureté ? Aucun modèle ne permet de mesurer l'impact ce type d'imperfection sur la vitesse d'une réaction régulée par la diffusion.

Tous ces modèles peuvent être présentés d'une manière synthétique.

4.4.5 Synthèse des modèles de diffusion

Quatre modèles mathématiques permettant la description des phénomènes de diffusion sont décrits dans la littérature. La loi parabolique, diffusion sur une dimension, la diffusion 2D, et les modèles de Jander et Ginstling-Brounshtein qui modélisent des cinétiques régulées par une diffusion tridimensionnelle. Ces modèles sont décrits respectivement par les équations éq. 64 ; éq. 65; éq. 71 et éq. 72. Les équations sont présentées en Tableau 4.

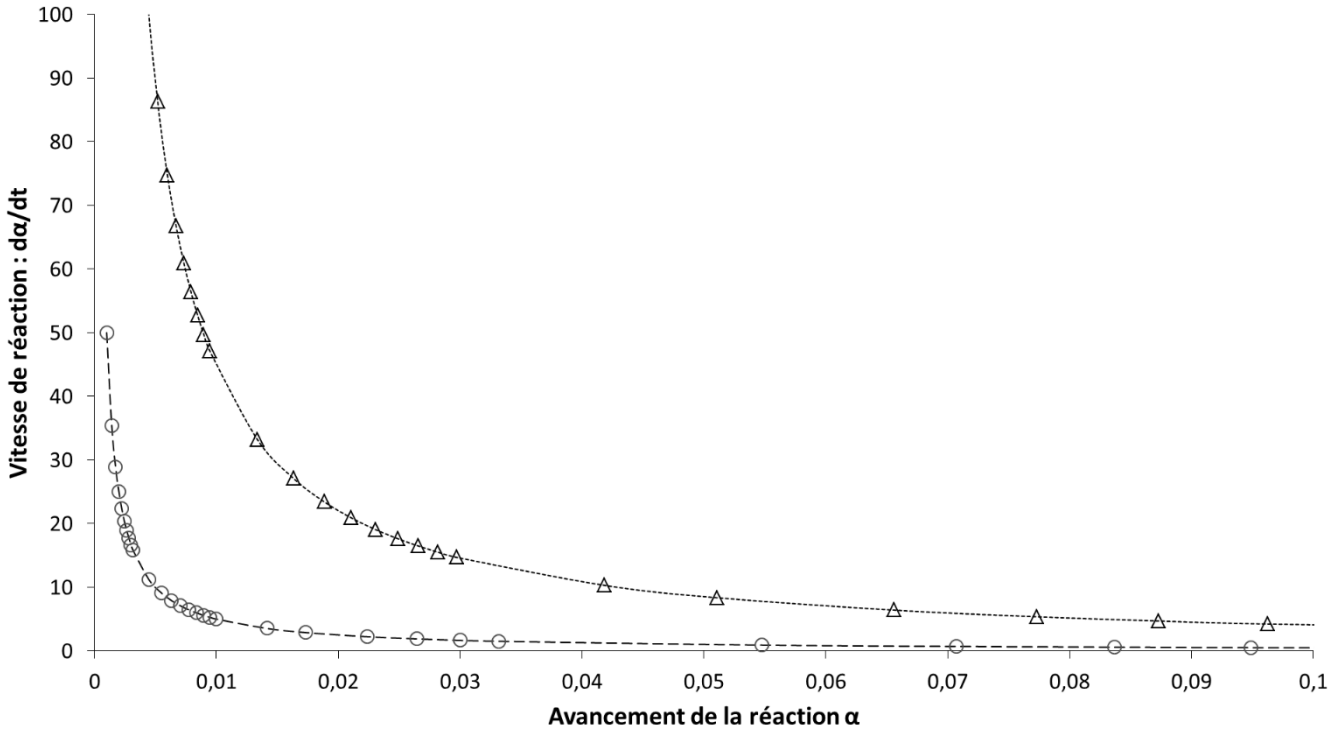
Tableau 4: principaux modèles de diffusion.

Type de diffusion	Modèle
1 dimension : modèle parabolique	$\alpha = (k_d t)^{\frac{1}{2}}$
2 dimensions	$(1-\alpha)\ln(1-\alpha) + \alpha = kt$
3 dimensions : modèle de Jander (valable pour une réaction peu étendue)	$(1-(1-\alpha)^{\frac{1}{3}})^2 = k_g t$
3 dimensions : Ginstling-Brounshtein	$1 - \frac{2}{3}\alpha(1-\alpha)^{\frac{2}{3}} = kt$

Dans certains travaux, le modèle de nucléation standard proposé par l'équation éq. 73 est appliqué pour décrire les phénomènes de cinétiques régulées par diffusion [11]:

$$-ln(1-\alpha) = (kt)^m \qquad \text{Eq. 73}$$

Cette équation est une autre présentation de l'équation éq. 51, le modèle de JMAEK. Dans l'équation éq. 73, l'exposant m serait égal à 1,5 pour une diffusion en 1 dimension ; 2 pour 2 dimensions et 2,5 pour 3 dimensions. Elle permet de représenter le tout-en-une équation, et fait un lien avec les cinétiques de nucléation. Une représentation graphique des principaux modèles de diffusion (1D et 3D) est proposée en Figure 5.



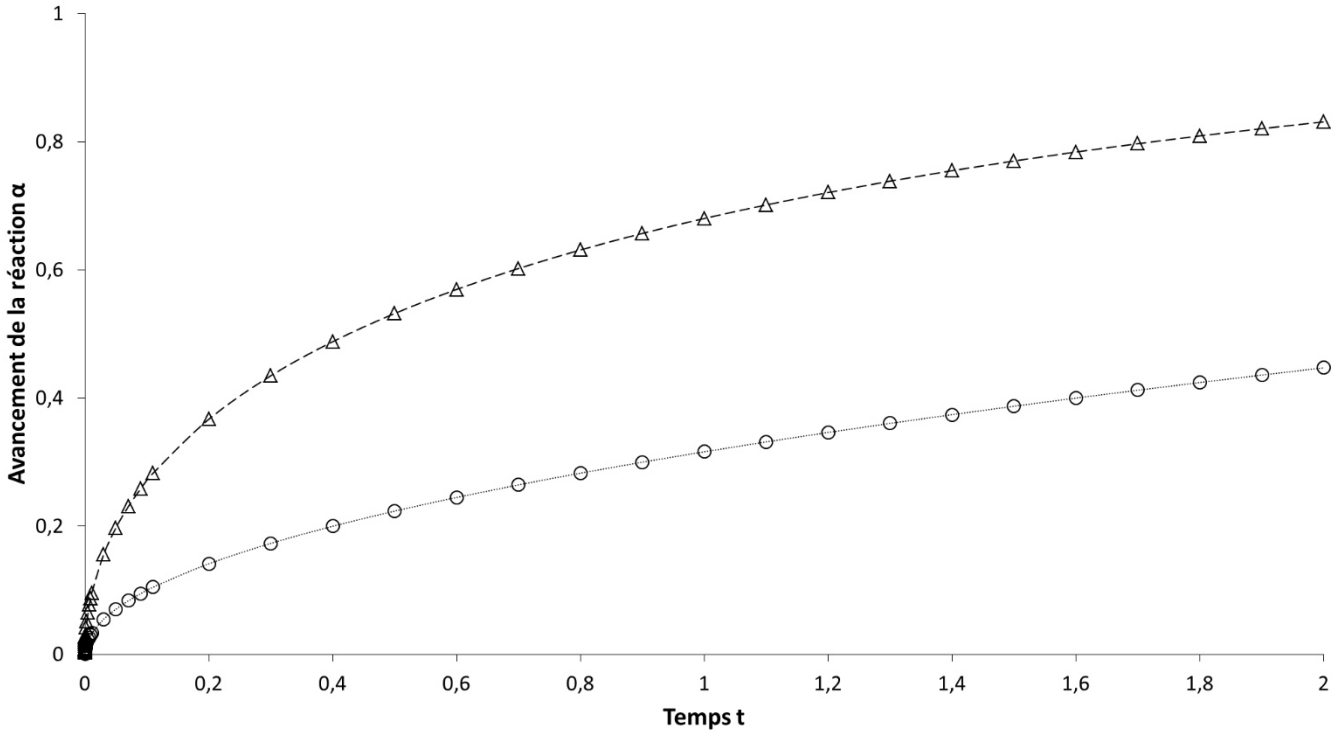


Figure 5a et 5b : représentation graphique des vitesses des réactions modulées par un phénomène de diffusion selon l'avancement α et avancement de la réaction en fonction du temps selon l'équation éq. 73. Avec ○ pour une diffusion sur 1 dimension et Δ pour une diffusion sur 3 dimensions.

Ces modèles permettent la description de phénomènes cinétiques dont la vitesse est régulée par la diffusion, notamment à travers une couche réactionnelle.

Or, dans de nombreux cas en phase solide, une telle couche n'est pas présente. Le produit de la réaction entre un solide A_s et une molécule $B_{S,L,G}$ ne conduit pas nécessairement à la formation d'une couche barrière régulant la vitesse de réaction. Alors, dans ce cas, le solide A_S sera consommé à une vitesse dépendant notamment de sa forme géométrique cristalline. De telles réactions sont modélisées selon les équations de contraction géométrique.

4.5 Modèles de réactions par contraction géométrique

En phase solide, la germination, préalable aux réactions de nucléation, peut survenir simultanément dans plusieurs zones réactionnelles. B. Delmon distinguait deux types de germinations : (i) la germination uniforme, survenant avec une probabilité égale en n'importe quelle zone, et (ii) la germination localisée, en des points bien définis du réseau : accidents ; impuretés ; conduisant à la formation de *nuclei* [4].

Considérant la surface d'une structure géométrique cohérente, un cristal par exemple. Si la germination est uniforme, elle occupera toute la surface du cristal. De même, si elle survient dans des zones thermodynamiquement instables (dans lesquelles un désordre induit une perturbation de la réactivité) et qu'elle est suffisamment rapide et étendue, toute la surface de la structure géométrique sera identiquement réactive.

Lorsque sur une telle structure ont lieu des réactions de nucléation diffuses, rapides et simultanées, la cinétique globale de la réaction peut être modélisée en considérant la somme de toutes les réactions individuelles. Ce phénomène conduit à l'apparition d'une couche de réactivité recouvrant l'intégralité de la surface cristalline [25]. La modélisation cinétique d'un tel phénomène tient compte nécessairement de la géométrie de la surface de réactivité.

Ainsi, les modèles cinétiques de contraction géométrique sous-entendent une période d'induction courte associée à une intense et diffuse nucléation sur toute la surface active de la structure

géométrique. La vitesse de réaction maximale est atteinte dès un avancement de réaction faible. À terme, elle subit une décélération due à la réduction volumétrique du cristal.

Plusieurs modèles de contractions géométriques sont décrits dans la littérature. Ces modèles dépendent notamment de la géométrie microscopique cristalline. Elle conditionne logiquement l'évolution spatiale et l'avancement d'une telle réaction. La description générale du mécanisme des réactions de contraction géométrique est abordée dans ce chapitre. Ensuite, les équations de contractions des structures cubiques, sphériques et cylindriques y sont détaillées. Enfin, une équation générale permettant la modélisation des réactions de contractions géométriques sera explicitée.

4.5.1 Mécanismes réactionnels et modélisations des contractions géométriques

Lors d'une réaction dont la cinétique suit un modèle de contraction géométrique, le mécanisme réactionnel est caractérisé par une période d'induction courte ainsi qu'une nucléation intense et diffuse sur toute la surface active de la structure géométrique.

Soit une structure géométrique, de paramètre de forme « a_0 » à t = 0 et « a » au temps t, l'équation éq. 74 permet la description générale des phénomènes de diffusion :

$$a = a_0 - kt \qquad \text{Eq. 74}$$

Avec a_0 et a étant des paramètres de forme de la structure aux temps t_0 et t respectivement et k la vitesse de réaction. Ainsi, ladite structure géométrique, au temps « t », sera « consommée » d'une quantité de matière égale à « $a_0 - a$ », comme schématisé par la Figure 6.

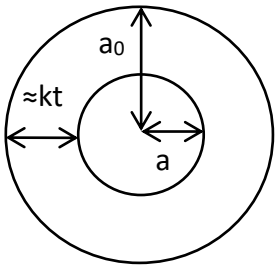


Figure 6: coupe circulaire d'une structure cylindrique à t = 0 (rayon = a_0), puis après un temps t (rayon = a). La quantité de matière consommée est proportionnelle à kt.

Ainsi, pour « n » structures géométriques de volume initial « V_0 » et de masse molaire « ρ », l'avancement α dépendra de la masse volumique de la structure, du volume occupé par « n » structures, et de la vitesse de réaction. La masse de « n » structures de volume « V_0 » est donnée par l'équation éq. 75 :

$$m_0 = n \times V_0 \times \rho \qquad \text{Eq. 75}$$

La réaction considérée comme uniforme et homogène dans la zone définie, l'avancement α peut s'écrire selon l'équation éq. 76. V est le volume résiduel occupé par une structure après un temps de réaction « t ».

$$\alpha = \frac{nV_0\rho - nV\rho}{nV_0\rho} \qquad \text{Eq. 76}$$

L'équation éq. 76 est l'équation générale d'avancement des réactions de contraction géométrique. Celle-ci, combinée à l'équation éq. 74, peut être déclinée aux différentes formes des structures cristallines ordonnées. Spécifiquement, les cas des cristaux cubiques, cylindriques, et sphériques sont présentés ensuite.

4.5.1.1 Structures cristallines régulières : cubiques ou sphériques

Lorsqu'une structure cristalline présente une géométrie régulière, par exemple cubique de côté « a_0 », ou sphérique de rayon « a_0 », les volumes de chaque structure sont donnés par les équations éq. 77 et éq. 77 respectivement.

$$V_0 = {a_0}^3 \qquad \text{Eq. 77}$$

$$V_0 = \frac{4}{3}\pi . {a_0}^3 \qquad \text{Eq. 78}$$

En combinant les équations éq. 74 et éq. 76 avec éq. 77 ou éq. 77 le cas échéant, on obtient l'équation (55) :

$$1 - (1 - \alpha)^{\frac{1}{3}} = \frac{kt}{a_0} = k't \qquad \text{Eq. 79}$$

Cette équation décrit la cinétique réactionnelle des modèles de contraction géométrique cubique ou sphérique [26]. Ce modèle est le plus simple et s'applique à une structure ayant, de par sa forme équilibrée, une réactivité homogène sur toute sa surface. Lorsque la surface n'est pas uniforme, si la structure est un cristal cylindrique par exemple, le modèle décrivant sa cinétique devra tenir compte des spécificités surfaciques.

4.5.1.2 Structures cristallines irrégulières

Le cas décrit précédemment est le cas de structures géométriques dont les surfaces sont identiques et régulières : cube ou sphère. Lorsque les surfaces d'un cristal ne sont pas identiques, dans le cas d'un cylindre par exemple, la cinétique de réaction est modélisée différemment car les surfaces ne seront pas « consommées » identiquement.

Sur le même principe que les structures cubiques et sphériques, l'équation décrivant la cinétique des phénomènes de contraction géométrique cylindrique fait intervenir la formule du volume d'un cylindre, donnée par l'équation éq. 80:

$$V_0 = \pi . {a_0}^2 . hauteur \qquad \text{Eq. 80}$$

En combinant les équations éq. 74 et éq. 76 avec l'éq. 80 on obtient éq. 81 :

$$1 - (1 - \alpha)^{\frac{1}{2}} = \frac{kt}{a_0} = k't \qquad \text{Eq. 81}$$

Cette équation permet la description mathématique des modèles cinétiques de contraction géométrique lorsqu'une structure cristalline possède des surfaces irrégulières. Elle s'applique notamment aux cristaux cylindriques, parallélépipédiques ou encore discoïdaux. Au regard des similarités entre modèles, une équation plus générale peut être proposée.

4.5.1.3 Équation générale des modèles de contraction géométrique

Le présent chapitre décrit les modèles cinétiques de contractions géométriques de cristaux sphériques, cubiques par l'équation éq. 82 ou cylindriques, parallélépipédiques et discoïdes avec l'équation éq. 83.

$$1 - (1 - \alpha)^{\frac{1}{3}} = k't \qquad \text{Eq. 82}$$

$$1 - (1 - \alpha)^{\frac{1}{2}} = k't \qquad \text{Eq. 83}$$

Une équation de forme plus générale peut être présentée selon l'équation éq. 84:

$$1 - (1 - \alpha)^{\frac{1}{n}} = k't \qquad \text{Eq. 84}$$

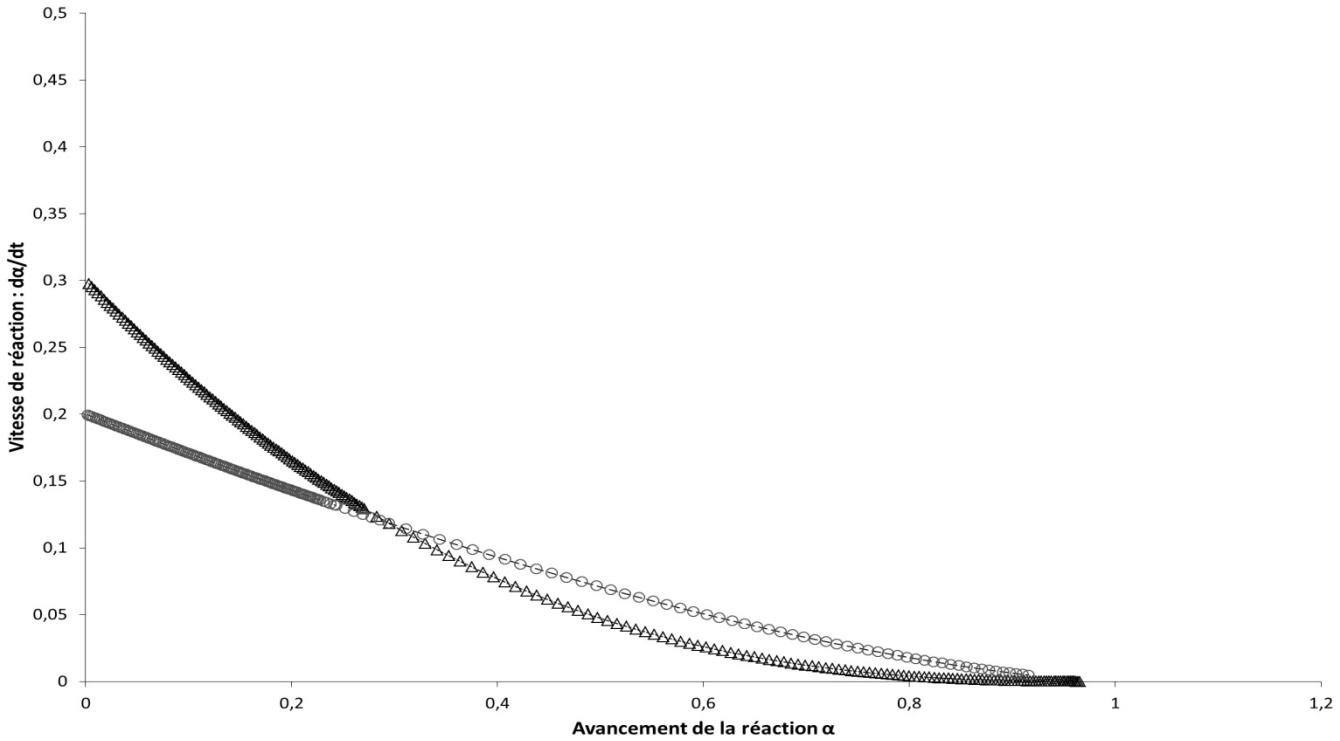
Dans ce modèle, le paramètre « n » est un descripteur de la dimension de la réaction. Sa signification géométrique est présentée dans le Tableau 5.

Tableau 5 : dimension de la réaction selon la valeur du paramètre « n ».

Paramètre « n » de l'équation (57)	Dimension de la réaction
3	Contraction volumique
2	Contraction surfacique
1	Réaction d'ordre zéro

« n » est donc le nombre de dimensions vers lesquelles l'interface réactionnelle avance. Lorsque n = 3, la réaction évolue en 3 dimensions (D). Lorsque n = 2 elle évolue en 2D. Pour n = 1 la réaction est linéaire et d'ordre zéro.

Les représentations graphiques des cinétiques de diffusion sont proposées en Figure 7.



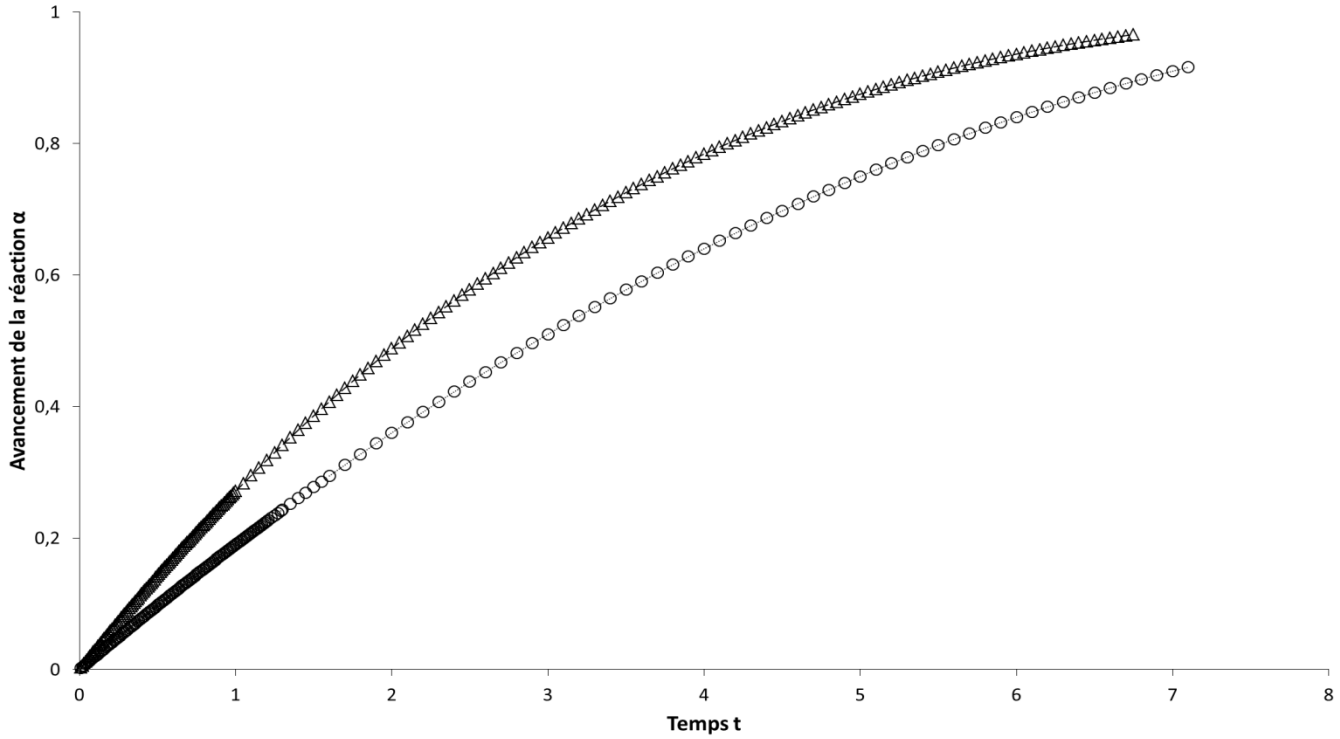


Figure 7a et 7b : représentation graphique des vitesses des réactions de contraction géométrique selon l'avancement α et avancement de la réaction en fonction du temps selon l'équation éq. 84. Avec ○ n = 1 dimension et Δ pour n = 3 dimensions.

Les modèles de contraction géométrique furent décrits dans la première moitié du XXème siècle. Ceux-ci s'appliquent par exemple à la description de la décomposition chimique des cristaux de carbonate d'argent Ag_2CO_3, ou encore des cristaux d'oxalate monopotassiques monohydrogénés hémihydratés $2KHC_2O_4.H_2O$ [27] [28].

À travers les cas des cristaux cylindriques, cubiques, sphériques, ou autres formes, il est aisé de comprendre que la forme du cristal aura une influence sur la cinétique de réaction lorsque celui-ci est consommé. La bonne connaissance de la cinétique réactionnelle de contraction géométrique liée à chacune des formes est nécessaire pour la compréhension des mécanismes de dégradation en phase solide.

4.6 Conclusion : modélisation cinétique en phase hétérogène

Les mécanismes de réaction chimique en phase hétérogène, leur processus réactionnel et les modèles décrivant leurs cinétiques ont été présentés. Ces mécanismes étaient, tout d'abord, les modèles des réactions d'ordre. Ensuite, les différents modèles de nucléation : loi de puissance de nucléation, réaction d'Avrami-Erofeyev (ou modèle JMAEK) et modèle auto-catalytique de Prout-Tompkins. Puis, les réactions régulées par des phénomènes de diffusion en 1 dimension, 2 dimensions et 3 dimensions (modèle de Jander). Enfin, les contractions géométriques en 1D, 2D et 3D. Les représentations graphiques des principaux modèles ont été présentées. Tous ces modèles de réaction sont résumés dans le Tableau 6.

Tableau 6: Modélisation mathématique des phénomènes réactionnels en phase solide (formes différentielles des modèles de réaction $\frac{d(\alpha)}{d(t)}$) et formes intégrées pour chaque type de réaction selon k et α.

Modèle cinétique	**Forme différentielle ($\frac{d(\alpha)}{d(t)}$ =)**	**Forme intégrale (g(α) = kt)**	**Forme intégrale décrivant l'avancement de la réaction (α =)**
Modèles de réaction basés sur les ordres			
Ordre 0	k	α	kt
Ordre 1	$k.(1-\alpha)^1$	$-\ln(1-\alpha)$	$1-e^{-kt}$
Ordre 2	$k.(1-\alpha)^2$	$[(1-\alpha)^{-1}-1]$	$1-\frac{1}{1+kt}$
Ordre 3	$k.(1-\alpha)^3$	$[(1-\alpha)^{-2}-1]0{,}5$	$1-(1+kt)^{-0{,}5}$
Modèles de réaction de type nucléation			
Réaction en puissance (d'ordre « n »)	$k.n(\alpha)^{\frac{(n-1)}{n}}$	$(\alpha)^{\frac{1}{n}}$	$(kt)^n$
Nucléation (JMAEK)	$k.n(1-\alpha)[-\ln(1-\alpha)]^{\frac{(n-1)}{n}}$	$([-\ln(1-\alpha)]^{1/n})$	$1-e^{-(kt)^n}$
Auto-catalyse (Prout-Tompkins)	$k.\alpha(1-\alpha)$	$\ln(\frac{\alpha}{1-\alpha})$	$(1+(e^{kt})^{-1})^{-1}$
Modèles de réaction de type diffusion			
Diffusion sur 1 dimension	$k.\frac{1}{2\alpha}$	α^2	$(kt)^{1/2}$
Diffusion sur 2 dimensions	$k.[-\ln(1-\alpha)]^{-1}$	$\{((1-\alpha)\ln(1-\alpha)) + \alpha\}$	
Diffusion sur 3 dimensions (Jander)	$k.\frac{3(1-\alpha)^{2/3}}{2[1-(1-\alpha)^{1/3}]}$	$[1-(1-\alpha)^{1/3}]^2$	$1-[1-(kt)^{\frac{1}{2}}]^3$
Diffusion sur 3 dimensions (Ginstling-Brounshtein)	$k.\frac{3}{2[-1+(1-\alpha)^{-1/3}]}$	$1-\frac{2\alpha}{3}-(1-\alpha)^{\frac{2}{3}}$	
Modèles de réaction de type contraction			
Contraction de surface (n = 2) ou contraction de volume (n = 3)	$k.n(1-\alpha)^{\frac{(n-1)}{n}}$	$1-(1-\alpha)^{\frac{1}{n}}$	$1-(1-kt)^n$

Afin de simplifier la représentation mathématique des modèles cinétiques, Šesták et Berggren proposent en 1971 un modèle valise, permettant de représenter toutes les équations présentées dans ce chapitre en une seule formule [29]. Son expression est donnée par l'équation éq. 85:

$$g(\alpha) = \alpha^m(1-\alpha)^n(-ln(1-\alpha))^p \qquad \text{Eq. 85}$$

Selon les valeurs attribuées à m, n et p, tous les modèles présentés au Tableau 6 peuvent être exprimés.

Appliqués à l'étude de la stabilité des médicaments, ces modèles permettent de comprendre, de caractériser, de modéliser mais également de prédire l'évolution d'une quantité d'un principe actif formulé.

D'une part, la mesure et l'analyse de la dégradation du ou des principes actifs d'un médicament en phase homogène ou hétérogène permet, par corrélation, de trouver un modèle cinétique pertinent. Via ce modèle, un mécanisme de dégradation est déduit. Il permet une compréhension des phénomènes physiques et chimiques microscopiques ainsi que la formulation d'hypothèses quant aux voies de dégradation des principes actifs.

D'autre part, la formulation du modèle mathématique décrivant la cinétique réactionnelle permet son extrapolation. En utilisant le modèle corrélé aux mesures initiales, la cinétique de dégradation chimique du principe actif étudié est extrapolée et prédite sur une durée définie. Selon les spécifications de la CIH, une date de péremption sera prédite pour un médicament à l'étude.

Le modèle mathématique décrivant la dégradation chimique des molécules est une première composante des équations permettant de prédire la stabilité des médicaments. Il faut également intégrer les contraintes environnementales. Ainsi, la Loi d'Arrhenius permet un descriptif de la vitesse de réaction selon la température.

5. Effet de la température : la loi d'Arrhenius

Svante August Arrhenius, chimiste suédois, étudiait en 1889 la vitesse de transformation du sucre de canne. Par une approche descriptive, il formule en appliquant la loi de Van't Hoff, une équation mathématique permettant de modéliser la vitesse de réaction selon la température [30]. L'équation éq. 86 est la loi dite d'Arrhenius.

$$\frac{d\alpha}{dt} = A.exp(\frac{-E_a}{R.T})f(\alpha) \qquad \text{Eq. 86}$$

Avec f(α) le mécanisme de la réaction, k la constante cinétique de vitesse, T la température (en Kelvin), E_a l'énergie d'activation de la réaction, R la constante des gaz parfaits, et enfin A : le facteur de fréquence.

Le facteur de fréquence est une représentation de la probabilité de collision entre les réactifs. L'énergie d'activation est l'énergie qui doit être apportée au système réactionnel pour dépasser la barrière énergétique.

La loi d'Arrhenius permet de modéliser les vitesses de réaction en fonction de la température. Les constantes de l'équation d'Arrhenius peuvent être obtenues selon deux approches expérimentales : la méthode isotherme et non isotherme.

5.1 Méthode isotherme

L'étude isotherme de l'impact de la température sur une cinétique réactionnelle va consister à mesurer les concentrations des molécules à analyser après stockage dans différentes conditions de température fixe puis d'appliquer la loi d'Arrhenius linéarisée.

Étant une exponentielle, il est possible de linéariser l'équation éq. 86 afin d'en faciliter sa représentation et de calculer aisément les facteurs. Elle prendra la forme d'une droite simple d'équation y(x) = ax + b selon l'équation éq. 87 :

$$ln\left(\frac{d\alpha}{dt}\right) = ln(A) - \frac{E_a}{R.T} + ln(f(\alpha)) \qquad \text{Eq. 87}$$

Ainsi, la connaissance des différents descripteurs de l'équation permet de modéliser la vitesse de réaction selon la température. Une autre méthode est parfois employée : la méthode non isotherme.

5.2 Méthode non isotherme

Lors de l'étude de l'effet de la température sur la vitesse d'une réaction chimique d'après la loi d'Arrhenius, la mesure de l'impact de la température peut être réalisée en cinétique non isotherme [31].

Pour cela, les échantillons à analyser vont être conservés dans différentes conditions, avec une température non fixe. L'environnement est réchauffé à une vitesse β (facteur de vitesse de réchauffement) selon l'équation éq. 88 :

$$T(t) = T_0 + \beta t \qquad \text{Eq. 88}$$

Ici T_0 est la température initiale, β la vitesse de réchauffement et t le temps.

Ainsi, l'avancement d'une réaction non isotherme peut s'exprimer selon :

$$\frac{d\alpha}{dT} = \frac{d\alpha}{dt} \times \frac{dt}{dT} = \frac{A}{\beta} e^{-\frac{E_a}{RT}} f(\alpha) \qquad \text{Eq. 89}$$

Dans cette équation éq. 89, dα/dT est l'avancement de la réaction selon la température tandis que dα/dt est l'avancement selon le temps. A est le facteur de collision d'Arrhenius, β la vitesse de réchauffement de la réaction, E_a l'énergie d'activation, T la température en Kelvin et R la constante des gaz parfaits. f(α) est l'équation du modèle de réaction. L'intégration de dα/dT permet le calcul de la dépendance de la cinétique d'avancement de la réaction à la température.

La modélisation de l'impact de la température sur la cinétique réactionnelle est ainsi présentée. Deux méthodes en permettent l'analyse : méthode isotherme et non isotherme.

L'équation d'Arrhenius est appliquée à l'étude descriptive de la dépendance à la température de nombreuses réactions chimiques. Celle-ci a connu et connait toujours un grand succès du fait de l'excellente corrélation entre les résultats et ce modèle. Cependant, l'équation n'est applicable que dans le cas où le mécanisme réactionnel reste identique. Si des voies réactionnelles sont induites ou inhibées selon T, les facteurs A et E_a seront modifiés.

La température est un paramètre majeur conditionnant la vitesse de réaction. Pour un mécanisme réactionnel donné, plus la température est importante, plus la vitesse de réaction est rapide. De plus, plus la température est élevée, plus d'autres voies réactionnelles peuvent être induites.

L'effet thermique est une composante incontournable à l'étude de la stabilité chimique des médicaments. La température est un élément qui doit être maitrisé dans la chaine d'approvisionnement du médicament et ses préconisations de conservation. Les environnements de stockage recommandés par la CIH dans l'étude de la stabilité des médicaments font intervenir

plusieurs températures selon le profil du médicament et ou de la molécule active. La CIH indique également, pour chaque milieu de stockage, une humidité relative cible.

6. Influence de l'eau et modélisation du paramètre d'humidité

6.1 Introduction

L'introduction dans ce chapitre des mécanismes réactionnels et leurs modélisations permettent une compréhension de l'évolution de la vitesse d'une réaction chimique et une représentation mathématique de celle-ci. De même, la température, par son effet sur (i) la vitesse d'avancement d'une voie réactionnelle et sur (ii) l'activation de différents schémas de réaction est également un paramètre fondamental à la modélisation de la vitesse d'une réaction. À ces deux composantes, il faut ajouter le descripteur d'humidité.

En chimie pharmaceutique, les médicaments formulés en phase homogène sont généralement dissous dans une solution aqueuse. Le principe actif déjà dilué dans l'eau liquide, l'eau environnementale n'a aucun d'impact sur sa cinétique de dégradation. La connaissance du mécanisme de réaction couplé à la loi d'Arrhenius suffit à modéliser les vitesses de réaction. À l'inverse, en milieu non homogène, l'humidité aura un impact sur la conservation du médicament (par exemple pour les médicaments sous forme orale sèche).

En effet, les molécules d'eau peuvent interagir avec les solides de plusieurs manières. L'eau peut (i) former des hydrates, (ii) s'absorber dans le solide ou (iii) s'adsorber sur les surfaces. L'eau fixée sur un solide altérera sa structure, la modifiera physiquement, hydrolysera les molécules le composant, ou favorisera des voies réactionnelles de décomposition chimique. L'impact de l'humidité doit être évalué et intégré aux modélisations. Tout d'abord, en définissant les descripteurs de l'eau environnementale : humidité, humidité absolue, humidité relative, et pression de vapeur.

L'humidité est définie comme la teneur en eau d'un sol ou de l'atmosphère. Cette teneur en eau environnementale est quantifiée par la mesure de l'humidité relative et absolue. L'humidité absolue (HA) est le nombre de grammes de vapeur d'eau par mètre cube d'air. L'humidité relative (HR) est définie par le pourcentage de la pression effective de la vapeur d'eau à pression maximale

saturante. Enfin, la pression de vapeur (PV) de l'eau est la pression partielle de l'eau gazeuse. C'est la pression qu'exercent les molécules sur la surface d'un solide. La définition des descripteurs d'humidité est préliminaire à la représentation mathématique de leur effet sur les corps, en phase hétérogène.

En effet, en phase hétérogène, des transformations physiques peuvent survenir. Ces transformations sont liées aux variations de température ou aux variations d'humidité. Le changement d'état en phase solide (fusion, transition vitreuse, sublimation, ou toute transition de phase possible), la formation de poches d'eau, ou l'action de l'eau environnementale sur les principes actifs aura un impact sur la vitesse d'éventuelles réactions. Ainsi est-il intégré lors de l'étude de la cinétique des réactions.

Plusieurs représentations de l'humidité dans les modèles cinétiques ont été proposées ces vingt dernières années. La représentation de l'humidité en facteur, introduite par Waterman et de l'humidité en puissance, proposée par Clancy.

6.2 Humidité en facteur

En étudiant la stabilité chimique de petites molécules en formulations pharmaceutiques solides soumises à différentes contraintes de température et d'humidité, Waterman et Al. proposent une expression mathématique permettant de mesurer l'effet de l'humidité sur la vitesse de dégradation chimique d'un médicament [32].

En analysant la cinétique de dégradation selon l'humidité environnementale, l'effet de l'eau peut être modélisé selon l'équation éq. 90:

$$ln(k) = ln(A) - \frac{E_a}{R.T} + B.(RH) \qquad \text{Eq. 90}$$

Dans laquelle k est la constante de vitesse, A le facteur d'Arrhenius, E_a l'énergie d'activation de la réaction, R la constante des gaz parfaits, T la température, %HR est le pourcentage d'humidité relative et B est le descripteur d'humidité.

Ainsi, grâce au paramètre B, Waterman modélise l'impact de l'humidité dans la vitesse de dégradation des principes actifs qu'il étudie en le dissociant de la température. L'équation éq. 90 tient compte indépendamment des effets de la température et de l'humidité sur la cinétique d'une réaction. Cette approche découplée apporte de l'information supplémentaire pour une meilleure modélisation de cinétiques réactionnelles.

Cependant, Waterman n'apporte pas d'explication quant au rationnel de la représentation mathématique de l'effet de l'humidité. La construction de ce paramètre est purement empirique. Elle repose sur l'intégration de l'humidité relative dans l'équation d'Arrhenius, pondérée par le paramètre d'humidité B en exponentielle. Aussi, l'équation éq. 90 peut être présentée comme la formule éq. 91 :

$$k_{T,RH} = A \times exp\left(-\frac{E_a}{R.T}\right) \times exp(B.RH) \qquad \text{Eq. 91}$$

La cinétique de dégradation augmente exponentiellement avec l'humidité relative.

Cette représentation de l'humidité permet d'expliquer de nombreuses cinétiques en phase solide. Mais pas toutes, certaines données expérimentales restaient décorrélées de ce modèle. Ainsi, Clancy propose des représentations différentes de l'humidité.

6.3 Humidité en puissance

L'impact de l'humidité sur la vitesse de réaction est modélisé par Waterman selon une exponentielle de l'humidité relative, pondérée d'un facteur d'humidité B. Cette représentation, largement employée depuis, ne parvient cependant pas à décrire les cinétiques de dégradation de certains principes actifs. Sur la base de ces observations décorrélées, D. Clancy et Al. proposent plusieurs représentations mathématiques de l'humidité.

Afin d'en saisir le sens, il est primordial de représenter une réaction d'hydrolyse entre n moles d'un médicament M et x moles d'eau H_2O, quel qu'en soit le produit réactionnel.

$$mM + \mathrm{nH_2}0 \rightarrow$$

Le suivi de l'avancement de la réaction α est donné par l'équation éq. 92:

$$\frac{d\alpha}{dt} = k.[M]^m.[H_2O]^n \qquad \text{Eq. 92}$$

Ainsi, le paramètre d'humidité est-il exposé à la puissance de n.

$$\frac{d\alpha}{\mathrm{dt}} \sim [Eau]^N$$

L'humidité est exprimée à la puissance N, ou en puissance. C'est une première composante de l'équation de Clancy.

De plus, en phase hétérogène, lorsqu'un médicament solide est soumis par exemple à un environnement CIH, l'humidité environnementale est exprimée en humidité relative. Or, l'humidité peut agir selon deux modalités sur un solide : soit (i) par adsorption et formation de microgouttelettes sur une surface, soit par (ii) réaction directe entre l'eau gazeuse et le solide. Dans le premier cas, la réaction qui a lieu est de type solide-liquide, tandis que dans le second cas, la réaction est de type solide-gazeuse.

À partir de ce rationnel, Clancy propose d'employer deux représentations de l'humidité : l'humidité relative, pour modéliser les phénomènes d'absorption-adsorptions, et la pression de vapeur, pour modéliser les hydrolyses directes [33]. Il propose alors les représentations mathématiques données par les équations éq. 93 et éq. 94 :

$$\frac{d\alpha}{dt} = k.[RH]^N \qquad \text{Eq. 93}$$

$$\frac{d\alpha}{dt} = k.[VP]^N \qquad \text{Eq. 94}$$

Dans ces équations, dα/dt est l'avancement de la réaction, k la constante de vitesse à une température donnée, RH l'humidité relative en valeur absolue, VP la pression de vapeur et N le descriptif mathématique d'humidité.

Dans ce modèle, l'effet de l'eau est représenté selon les paramètres d'humidité relative, d'humidité absolue, et pondéré par un facteur de puissance. L'eau est dite élevée en puissance.

Ce modèle a permis avec succès de représenter les cinétiques de dégradation de molécules pour lesquelles les équations existantes n'apportaient pas de corrélation favorable. Ainsi, Clancy conclut que les modèles développés ont permis, avec un plan d'expérience de quelques semaines, de modéliser avec succès la dégradation de plus de 200 médicaments et de suivre l'apparition de plus de 600 impuretés avec une excellente corrélation avec les données expérimentales.

6.4 Conclusion

Jusqu'à il y a quinze ans environ, l'humidité était connue comme paramètre ayant un impact sur la vitesse de dégradation des formes pharmaceutiques solides. Elle était prise en compte dans l'étude de la stabilité des médicaments selon des conditions définies par la CIH. Cependant, la représentation mathématique de l'impact de l'eau sur la décomposition chimique des principes actifs n'était pas élucidée.

Avec les équations de Waterman en 2005-2007-2011 et Clancy en 2017, l'effet de l'humidité environnementale est enfin modélisé. L'eau en facteur exponentiel, ou élevée en puissance permet aux représentations mathématiques une corrélation avec les données expérimentales de la dégradation chimique de nombreuses molécules dans le champ pharmaceutique.

La compréhension des phénomènes physiques et leur description atteint un niveau de précision et d'exhaustivité qui n'avait jamais été jusqu'ici atteint. Alors, la prédiction devient possible.

7. Discussion et conclusion

Ce chapitre est un état de l'art. Il s'attache à présenter les 150 années qui ont permis de décrire, représenter, comprendre, modéliser et prévoir les cinétiques de dégradation des composés chimiques. Il peut être décomposé en trois parties. Tout d'abord la caractérisation des principaux mécanismes de réaction physiques et chimiques et leurs représentations mathématiques. Puis les facteurs environnementaux pertinents sont décrits et leurs impacts modélisés : la température

avec l'équation d'Arrhenius, et enfin le paramètre d'humidité selon Waterman et Clancy. Ces trois composantes peuvent être regroupées dans une équation cinétique générale incluant le modèle réactionnel dα/dt, l'effet température k(T), l'humidité H(RH) et le temps t comme présenté en équation éq. 95 :

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(T).H(RH) \qquad \text{Eq. 95}$$

Le Tableau 7 présente une synthèse des équations d'avancement α(t) selon le modèle réactionnel, la température, de descripteurs d'humidité H, les paramètres d'humidité N ou B, la constante cinétique k et le temps t, selon le type de modèles et la phase : homogène ou hétérogène.

Ainsi, ici sont décrits la majeure partie des phénomènes cinétiques applicables au suivi de la stabilité des médicaments. Ces notions théoriques bibliographiques seront exploitées au cours des chapitres II et III pour répondre à la problématique posée lors de ce travail : mesurer, caractériser et prédire la stabilité des médicaments.

Tableau 7 : synthèse des équations d'avancement de réaction selon les modèles cinétiques en phase homogène et hétérogène.

Phase	Modèle cinétique	Equation d'avancement de la réaction α(t) =	
Cinétique en phase homogène		***Modèles de réaction basés sur les ordres***	
	Ordre 0	$kt.[H]^N$	$kt.\exp(N.H)$
	Ordre 1	$(1-e^{-kt}).[H]^N$	$(1-e^{-kt}).\exp(N.H)$
	Ordre 2	$\left(1-\frac{1}{1+kt}\right).[H]^N$	$\left(1-\frac{1}{1+kt}\right).\exp(N.H)$
	Ordre 3	$(1-(1+kt)^{-0,5}).[H]^N$	$(1-(1+kt)^{-0,5}).\exp(N.H)$
Cinétique en phase hétérogène		***Modèles de réaction basés sur les ordres***	
	Ordre 0	$kt.[H]^N$	$kt.\exp(N.H)$
	Ordre 1	$(1-e^{-kt}).[H]^N$	$(1-e^{-kt}).\exp(N.H)$
	Ordre 2	$\left(1-\frac{1}{1+kt}\right).[H]^N$	$\left(1-\frac{1}{1+kt}\right).\exp(N.H)$
	Ordre 3	$(1-(1+kt)^{-0,5}).[H]^N$	$(1-(1+kt)^{-0,5}).\exp(N.H)$
		Modèles de réaction de type nucléation	
	Réaction en puissance (d'ordre « n »)	$((kt)^n).[H]^N$	$((kt)^n).\exp(N.H)$
	Nucléation (JMAEK)	$(1-e^{-(kt)^n}).[H]^N$	$(1-e^{-(kt)^n}).\exp(N.H)$
	Auto-catalyse (Prout-Tompkins)	$((1+(e^{kt})^{-1})^{-1}).[H]^N$	$((1+(e^{kt})^{-1})^{-1}).\exp(N.H)$
		Modèles de réaction de type diffusion	
	Diffusion sur 1 dimension	$((kt)^{1/2}).[H]^N$	$((kt)^{1/2}).\exp(N.H)$
	Diffusion sur 3 dimensions (Jander)	$(1-\left[1-(kt)^{\frac{1}{2}}\right]^3).[H]^N$	$(1-\left[1-(kt)^{\frac{1}{2}}\right]^3).\exp(N.H)$
		Modèles de réaction de type contraction	
	Contraction de surface (n = 2) ou contraction de volume (n = 3)	$(1-(1-kt)^n).[H]^N$	$(1-(1-kt)^n).\exp(N.H)$

CHAPITRE II :

MÉTHODE PRÉDICTIVE TOTALE ET APPLICATION

1. Introduction
2. Approche prédictive totale : chimie computationnelle.
3. Améliorer la stabilité d'une préparation d'amoxicilline en diffuseur
4. Discussion et conclusion

1. Introduction

Au cours du chapitre I, a été présenté un état de l'art quant à la modélisation de la stabilité chimique d'une molécule. Les différents mécanismes de dégradation chimique, leurs descriptions mathématiques et les représentations graphiques associées y sont présentés. Cet état des connaissances permet d'aborder par la suite les concepts théoriques et leur mise en application pour répondre aux objectifs de ce second chapitre. Ceux-ci sont doubles. Le premier est d'ordre thérapeutique : répondre à un besoin médical en développant d'une formulation d'amoxicilline injectable. Le second objectif est d'ordre méthodologique : recourir à une approche bio-informatique permettant la prédiction totale de la stabilité chimique de la molécule étudiée.

Le premier objectif est de répondre à une demande émanant de l'infectiologie de notre hôpital. Depuis plusieurs années, le développement de la prise en charge ambulatoire est une orientation stratégique prioritaire dans l'évolution de la prise en charge hospitalière en France. Elle constitue un axe majeur du plan d'efficience des établissements de santé promu par le ministère de la santé. Dans ce contexte, l'antibiothérapie (ATB) parentérale ambulatoire (APA) permet la prise en charge ambulatoire d'infections sévères dans la continuité de l'ATB hospitalière. Elle permet l'amélioration de la qualité de vie des patients tout en diminuant les coûts d'hospitalisation conventionnelle [34].

L'APA ne peut être instaurée que lorsque l'ATB le permet. Pour les formes injectables, les modalités de préparation et la stabilité physico-chimique de la molécule doivent être compatibles avec les contraintes de l'APA. Ces contraintes peuvent être limitantes. C'est le cas pour l'APA par amoxicilline à forte dose.

L'amoxicilline est un antibiotique bactéricide à spectre large de la famille des β-lactamines. Elle agit en se fixant aux protéines liant les pénicillines (PLP). Elle inhibe la synthèse du peptidoglycane, un composant essentiel de la paroi bactérienne. Administrée par voie percutanée ou per os, elle est largement utilisée du fait de son spectre large et de sa bonne tolérance.

L'amoxicilline est recommandée dans le traitement préventif et curatif de nombreuses infections bactériennes. Elle est indiquée en première ligne pour la prise en charge des infections ostéo-articulaires (IOA) profondes à streptocoque sensible. Dans ce cas, la HAS recommande une posologie de 1,5 à 2 g toutes les 4h par voie intraveineuse pendant 4 à 6 semaines [35]. Au regard de la durée de traitement, la prise en charge des IOA nécessite une APA. Or, l'amoxicilline à forte dose ne présente pas une stabilité suffisante. Lorsqu'elle est reconstituée en milieu glucosé ou en solution saline à 50 mg/mL, celle-ci n'est stable que 6 à 8 heures [36]. Le premier objectif de ce chapitre va être le développement d'une formulation d'amoxicilline injectable pour l'APA présentant une durée de conservation suffisante.

Le second objectif est d'ordre méthodologique. Il consiste à prédire totalement la cinétique de dégradation de la molécule. Pour ce faire, des outils de la bioinformatique vont être exploités. La bioinformatique est une science multidisciplinaire croisant les compétences biologiques, médicales, informatiques, statistiques et mathématiques pour décrire et expliquer les phénomènes du vivant. L'outil exploité au cours de ce chapitre est du ressort de la chimie computationnelle. C'est une science dédiée à la résolution des problèmes chimiques grâce aux outils informatiques. Ainsi, le second objectif est d'exploiter une méthode de chimie computationnelle pour modéliser et prédire les voies de dégradation chimique de l'amoxicilline afin de choisir les conditions favorables à sa stabilité.

2. Approche prédictive totale : chimie computationnelle.

2.1 Principe

Les facteurs d'instabilités peuvent être classés en trois groupes : facteurs liés à la structure de la substance active, facteurs liés à la formulation pharmaceutique et facteurs environnementaux. L'étude de la stabilité du médicament doit intégrer ces trois aspects. L'approche chimie computationnelle permet l'étude des facteurs liés à la structure de la substance active. Cette méthode permet la prédiction totale de la réactivité chimique d'une molécule et le calcul des constantes de dégradation cinétique associées.

Le principe repose sur l'exploitation informatique des lois de la chimie théorique. Ceci permet le calcul des propriétés d'objets chimiques selon les méthodes dites « *ab initio* ». Les

méthodes « *ab initio* » simulent le comportement théorique de molécules : flexibilité, mécanismes réactionnels, interactions, complexations, réactivité, etc. Le calcul de ces propriétés fait intervenir les équations fondamentales de la chimie quantique. Elle nécessite une résolution de ces équations par des calculateurs sophistiqués. La chimie computationnelle s'est donc développée parallèlement à l'ère de l'informatique.

Cette méthodologie est applicable pour le calcul des cinétiques de réaction des molécules. Elle est réalisée en plusieurs étapes : (i) simulation des voies de dégradation chimique d'une molécule, (ii) recherche des voies de dégradation favorables, (iii) recherche des intermédiaires réactionnels et des états de transitions favorables, (iv) calcul des énergies d'activation pour atteindre ces intermédiaires et enfin (v) calcul des constantes cinétiques.

La modélisation des voies de dégradation favorables, la recherche des intermédiaires réactionnels et des états de transition font intervenir des logiciels de chimie numérique (Gaussian®, Dalton®, Gamess®, …). Ces logiciels réalisent une série de calculs selon le niveau de théorie appliqué. Plus le niveau de théorie est poussé, plus les calculs vont nécessiter des calculateurs sophistiqués. Ces calculateurs résolvent des séries d'équations quantiques et thermodynamiques.

2.2 Thermodynamique

La prédiction totale de la stabilité chimique d'une substance active fait intervenir des calculs de chimie numérique via le logiciel Gaussian®. Ces calculs vont aboutir à la modélisation des voies de dégradation favorables (ou non), et le calcul des énergies d'activation réactionnelles. Cette modélisation est réalisée en 3 étapes.

La première étape va être la recherche de voies de dégradation dites favorables. En thermodynamique, une voie de dégradation qualifiée de favorable est une réaction chimique dont la différence d'enthalpie libre (ΔG) entre le réactif initial et le produit de réaction final est négative : $\Delta G < 0$. Le logiciel Gaussian® permet le calcul de l'enthalpie libre d'une réaction chimique. Appliqué à un schéma réactionnel proposant différentes voies de dégradation d'une substance active, le calcul des ΔG permet de mettre en évidence les voies de dégradation favorables ou non.

La mise en évidence des voies de dégradation favorables permet à ce stade de caractériser d'éventuels produits de dégradation. Une recherche bibliographique apportera des informations complémentaires : activité pharmacologique, toxicité, devenir pharmacocinétiques, etc.

La seconde étape s'applique sur chaque voie réactionnelle identifiée comme favorable. Elle consiste en une reconstitution du schéma de variation énergétique d'une voie, étape par étape. Un exemple de schéma type est proposé en Figure 8.

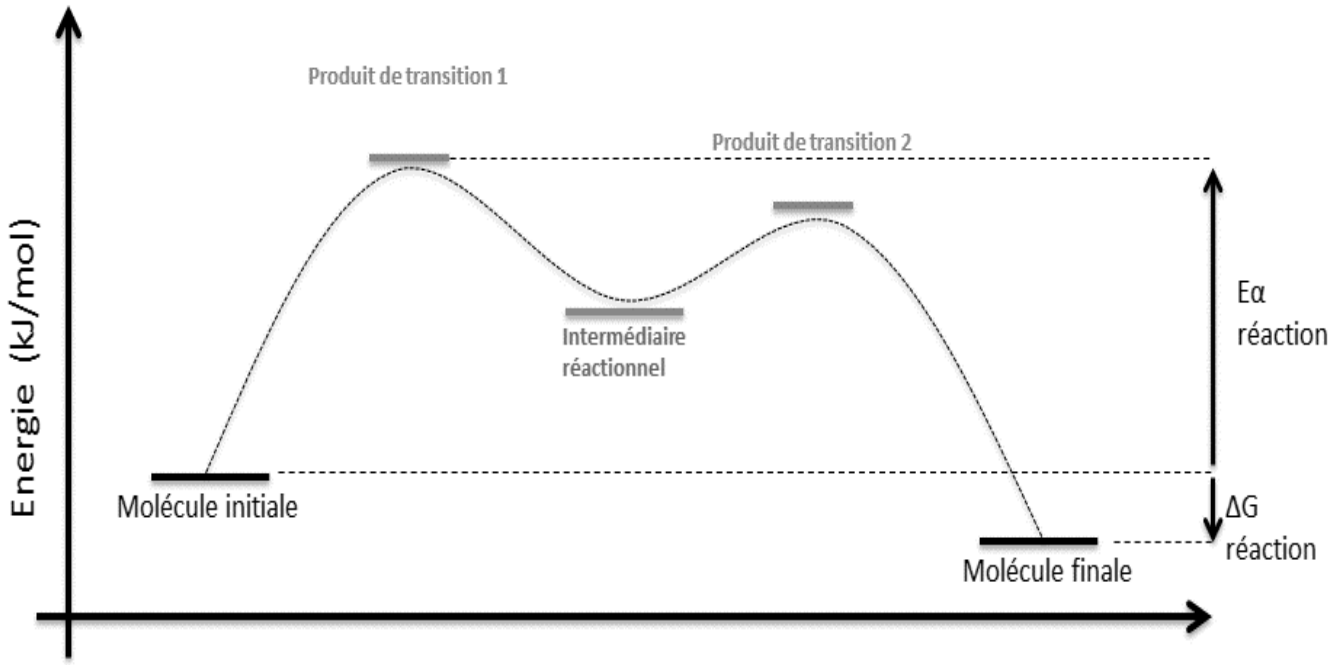


Figure 8 : variation de l'enthalpie libre d'une voie réactionnelle

Cette reconstitution est réalisée en mesurant la différence d'énergie libre entre chaque produit de la réaction : molécule initiale, produit(s) de transition, intermédiaire(s) réactionnel(s) et molécule finale. Le logiciel Gaussian® permet la recherche (i) des intermédiaires réactionnels (IR) les plus stables et (ii) des produits de transitions les plus favorables. Il permet également le calcul des différences d'énergies entre chaque molécule de la chaine réactionnelle. Cette étape de décomposition permet le calcul de l'énergie d'activation (E_α) de la réaction ainsi que la fréquence vibratoire induisant la réaction (ν_i).

Au cours de la troisième étape, les deux paramètres calculés précédemment (E_α et ν_i, énergie d'activation et fréquence vibratoire) pourront être utilisés dans les équations éq. 96 et éq. 97

issues de la théorie de la transition d'état d'Eyring (Transition State Theory) [37] [38]. Les autres paramètres de l'équation sont : k_i la constante cinétique, k_b la constante de Boltzmann, T la température (en Kelvin), h la constante de Planck, R la constante des gaz parfaits et K_i le coefficient de transmission.

$$k_i = K_i.(\frac{kb.T}{h}).e^{(\frac{-E\alpha}{R.T})} \quad \text{Eq. 96}$$

$$K_i = 1 + \frac{1}{24}.(\frac{h\vartheta_i}{k_b T})^2 \quad \text{Eq. 97}$$

L'obtention de k_i permet le calcul de la vitesse de chaque réaction. En effet, soit une réaction chimique simple :

$$[A] + [B] \rightarrow [C] + [D]$$

La cinétique de cette réaction est décrite par l'équation éq. 98.

$$\frac{dx}{dt} = k_i[A][B] \quad \text{Eq. 98}$$

Connaissant k_i, [A] et [B], le calcul de la vitesse de la réaction et donc la prévision de l'évolution de la concentration de l'un des réactifs en solution est possible.

La modélisation des voies réactionnelles permet au cours de cette étape thermodynamique d'obtenir une valeur de vitesse réactionnelle. Cette étape est réalisée via différents logiciels de chimie numérique. Le logiciel utilisé est Gaussian09®. Il permet la réalisation de ces calculs en exploitant des équations de mécanique quantique et moléculaire : les méthodes de Hartree Fock et la méthode de la Théorie de la Densité Fonctionnelle (Density Functional Theory). Elles font partie des méthodes dites « *ab initio* ».

2.3 Méthodes « *ab initio* »

La chimie computationnelle est une branche de la chimie qui utilise les lois de la chimie théorique combinées à des programmes informatiques. Les méthodes « *ab initio* » ou « à

priori » sont des méthodes de calcul informatique basées sur l'application des lois fondamentales de la chimie pour calculer les propriétés de groupes d'atomes.

Les méthodes « *ab initio* » ont toutes pour point de départ l'équation fondamentale de Schrödinger. Cette équation permet de décrire l'évolution spatiale et temporelle d'une particule quantique (caractérisée par une dualité onde et corpuscule). Via une série d'approximations de cette équation, les méthodes « *ab initio* » proposent sa résolution et le calcul découlant des propriétés d'un groupe d'atomes.

Les méthodes d'approximation fréquemment utilisées sont les méthodes dites de Hartree-Fock. Si une méthode plus précise est requise, les méthodes appelées post Hartree-Fock (HF) peuvent être appliquées. Parmi celles-ci, la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) est courante. La DFT est une méthode plus précise que les méthodes HF, mais elle consomme plus de ressource informatique. Il existe plusieurs variantes de la DFT. Celles-ci sont classées par complexité : SPWL, BLYP, BB95, B3LYP, M062X, B1B95. Elles ont pour nom les initiales de leurs auteurs.

À ces méthodes d'approximations sont associées différentes fonctions mathématiques pour décrire les orbitales atomiques électroniques. Ces fonctions, à mesure qu'elles augmentent en complexité, augmentent en précision, et donc en consommation de ressource informatique. Parmi les différentes fonctions permettant de décrire les orbitales, de la plus simple vers la plus complexe : STO 3G, 3-21G, 6-31G, 6-31G(d,p), 6-311++G(2d,p).

Enfin, l'environnement direct de la molécule peut être modélisé pour apporter encore plus de précision. Les effets de solvants peuvent être simulés et intégrés aux calculs, par méthode CPCM (Conductor-like Polarizable Continuum Model).

Les détails de chaque méthode de calcul ne seront pas abordés. La philosophie est : plus la méthode d'approximation est fine, plus les calculs sont précis et plus une ressource informatique importante sera nécessaire pour la résolution des équations. La modélisation doit maximiser la précision du calcul tout en utilisant un minimum de ressource informatique. Différents exemples d'application sont présentés ci-après.

2.4 Exemples d'application : hydrolyse de la Cefradine

La chimie computationnelle permet la construction du profil de dégradation d'une substance active et le calcul des vitesses des réactions. Cette méthode est présentée à travers un exemple de la littérature : « Prediction of Hydrolysis Pathways and Kinetics for Antibiotics under environmental pH Conditions: A Quantum Chemical Study on Cephradine », Haiqin Zhang, Hongbin Xie, Jingwen Chen, and Shushen Zhang, et al., Environmental Science & Technology 49, n°3, février 2015: 1552‑58 [39].

L'objectif de Zhang et Al. est de calculer le devenir environnemental d'un antibiotique, la cefradine. La contamination environnementale aux antibiotiques est problématique dans certains pays émergents. Plusieurs rivières et lacs sont pollués par des traces d'antibiotiques. L'exposition chronique des germes à ces antibiotiques sélectionne des souches résistantes puis multi-résistantes qui se répandent largement à travers le globe [40]. La dégradation chimique des antibiotiques polluants l'environnement semblant difficile à évaluer, les auteurs proposent une approche prédictive totale des demi-vies de ces molécules. L'approche proposée est l'utilisation de la DFT combinée à la théorie des états de transition d'Eyring.

Les calculs de DFT : géométries des réactifs, états de transition, intermédiaires réactionnels, sont réalisés avec le logiciel Gaussian09. Les niveaux de théorie appliqués partent de B3LYP/6-311++G(d,p), jusqu'à B3LYP/6-311++G(3df,3pd). Ceux-ci étant des niveaux considérés comme précis. Une variante au B3LYP est également employée : le M062X. Cette variante a donné dans d'autres études des résultats de cinétique intéressants [41]. Le solvant est modélisé par deux méthodes : CPCM et IEFPCM. Les résultats sont comparés à un jeu de données expérimentales.

Les auteurs identifient tout d'abord les voies de dégradation favorables. Un calcul des énergies libres pour chaque voie est réalisé. Il permet l'identification des voies d'hydrolyse possibles ou non. La synthèse est présentée en Figure 9.

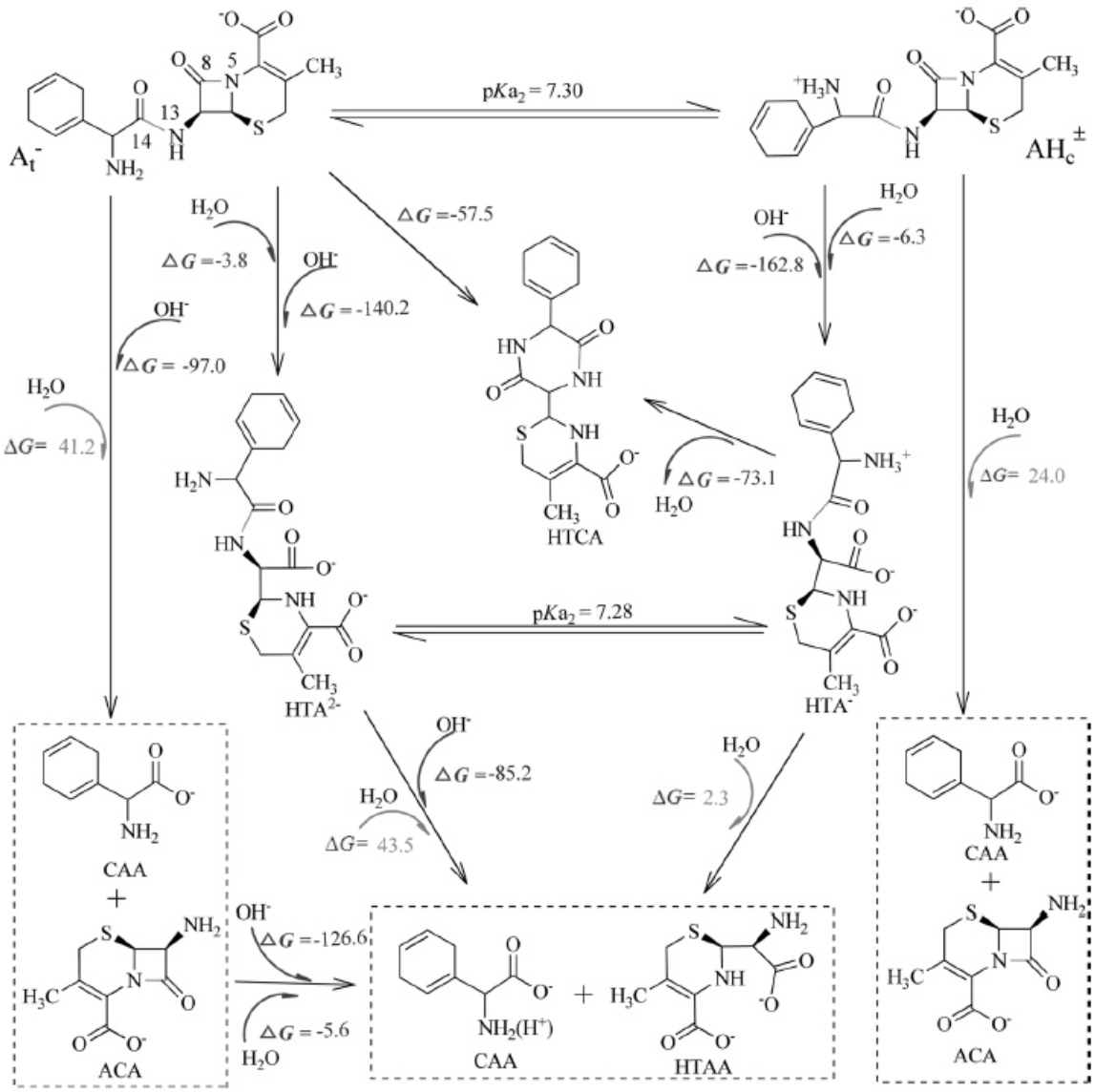


Figure 9: voies d'hydrolyse favorables ou non de la Cefradine (ΔG en KJ/mol). SI ΔG < 0 la voie d'hydrolyse est favorable. Si ΔG > 0, la voie est défavorable. D'après Zhang et Al.

Ainsi, les voies de dégradation favorables sont identifiées. Les mécanismes réactionnels pour chaque voie sont alors recherchés. Les auteurs construisent le profil de variation d'enthalpie libre de chaque réaction. Ceci permet d'identifier les mécanismes les plus favorables puis de calculer les énergies d'activation correspondantes. Les schémas sont présentés Figure 10.

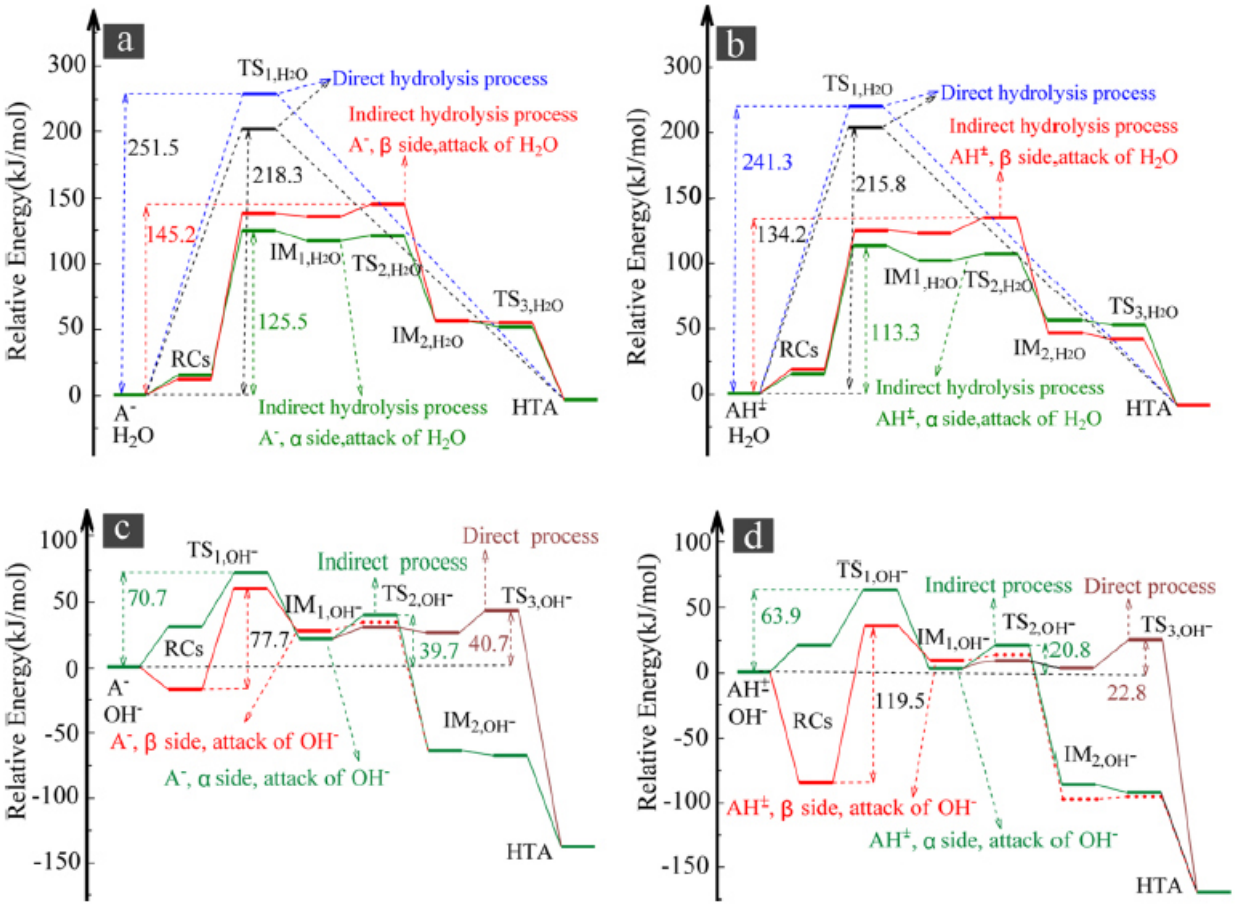


Figure 10 : variations d'enthalpies libres pour chaque voie réactionnelle. A-/AH : Cefradine neutre ou base, TS : Transition State, IM : InterMediates, RC : Reactants Complexes. D'après Zhang et Al.

Enfin, l'utilisation des énergies d'activation combinées aux équations de la théorie des états de transition (Transition State Theory, équations éq. 96, éq. 97) va permettre le calcul des vitesses réactionnelles d'hydrolyse, en fonction du pH. Ces vitesses sont présentées au Tableau 8.

Tableau 8 : vitesses d'hydrolyses expérimentales de la cefradine (1/s) à 298,15 K comparées aux vitesses prédites. D'après Zhang et Al.

$\log k_H$ (experimental)[a]	−6.96	−6.44	−6.09	−5.95	−5.92
$\log k_H$ [6-311++G(2d,2p)]	−7.22	−6.63	−6.13	−5.70	−5.28
$\log k_H$ [6-311++G(d,p)]	−6.72	−6.05	−5.53	−5.03	−4.44

En conclusion, cette étude présente une méthodologie pour (i) identifier des produits de dégradation d'une substance active, (ii) calculer les cinétiques d'apparition de ces produits et (iii) calculer les cinétiques de dégradation des principes actifs. La modélisation via les méthodes « *ab initio* » de chimie numérique permet d'apporter de nombreuses informations quant au devenir d'une molécule en solution.

Il aurait été intéressant de comparer les résultats calculés et expérimentaux par un test statistique approprié. De même, les résultats des niveaux de théorie n'ayant pas apporté de résultats pertinents auraient pu être présentés en commentant les écarts. Enfin, les requis informatiques de l'étude auraient également pu être décrits.

Cette approche peut être appliquée à l'étude de la stabilité d'un médicament en solution : une formulation d'amoxicilline injectable.

2.5 Approche prédictive totale : optimisation de la stabilité d'une formulation d'amoxicilline injectable forte dose

2.5.1 Contexte et objectifs

L'amoxicilline est un antibiotique de la famille des β-lactamines recommandé dans le traitement préventif et curatif de nombreuses infections bactériennes. Elle est indiquée en première ligne pour la prise en charge des infections ostéo-articulaires (IOA) profondes à streptocoque sensible. Dans ce cas, la HAS recommande une posologie de 1,5 à 2 g toutes les 4h par voie intraveineuse pendant 4 à 6 semaines [35] . Au regard de la durée de traitement, la prise en charge des IOA nécessite une APA. Or, l'amoxicilline à forte dose ne présente pas une stabilité suffisante. Lorsqu'elle est reconstituée en milieu glucosé ou en solution saline à 50 mg/mL, celle-ci n'est stable que 6 à 8 heures [36].

L'objectif de ce travail est de rechercher des conditions favorables de stabilité de l'amoxicilline par étude de stabilité prédictive totale (ESPT).

2.5.2 Matériel et méthode

L'étude de stabilité prédictive totale (ESPT) de l'amoxicilline est réalisée par calcul de la DFT de la molécule avec le logiciel GAUSSIAN09. Les calculs des formes de l'amoxicilline, des produits de dégradation, des intermédiaires réactionnels, des états de transitions sont réalisés aux niveaux de théorie B3LYP/6-311++G(2d,p) et M062X/6-311++G(2d,p). Le solvant, NaCl 0,9 %, est simulé par CPCM.

Dans un premier temps, les produits de dégradation stables sont recherchés. Ces produits de dégradation sont comparés aux données bibliographiques. Puis les enthalpies libres de chaque réaction sont calculées pour identifier les voies de dégradation favorables. Pour chaque voie favorable, un schéma des variations d'énergie libre de la réaction est construit. Ce schéma permet d'obtenir les énergies d'activation. De plus, les fréquences vibrationnelles des collisions entrainant les réactions sont également calculées. Les fréquences vibrationnelles et les énergies d'activation sont insérées dans l'équation d'Eyring éq. 99 introduite précédemment.

$$k_i = (1 + \frac{1}{24}.\left(\frac{h\vartheta_i}{k_b T}\right)^2).(\frac{kb.T}{h}).e^{(\frac{-E\alpha}{R.T})} \qquad \text{Eq. 99}$$

La constante de dégradation cinétique de l'amoxicilline k_{AMX} est ensuite calculée à pH 5, 6, 7, 8 et 9 afin de rester dans des valeurs physiologiques de pH et aux températures préconisées lors de l'utilisation du diffuseur, soit à 25°C et 32 °C. Cette modélisation sera comparée à des valeurs expérimentales de cinétique dégradation à pH 6,4 ; 7,4 et 8,5.

Cette étude est réalisée en partenariat avec le Pôle Rhône Alpes de Bio-Informatique – Lyon Gerland (PRABI-LG), Laboratoire de Biologie Tissulaire et d'Ingénierie de l'Institut de Chimie et Biologie des Protéines. (Pr Terreux, Dr Chemelle). Les calculs sont réalisés par un ordinateur type supercalculateur avec 20 processeurs de calculs.

2.5.3 Résultats

Les calculs des voies réactionnelles favorables ou non ont été réalisés en partenariat avec le laboratoire PRABI-LG. Les voies de dégradation étudiées sont présentées en Figure 11. Toutes molécules des voies de dégradation ont été stabilisées dans le logiciel Gaussian.

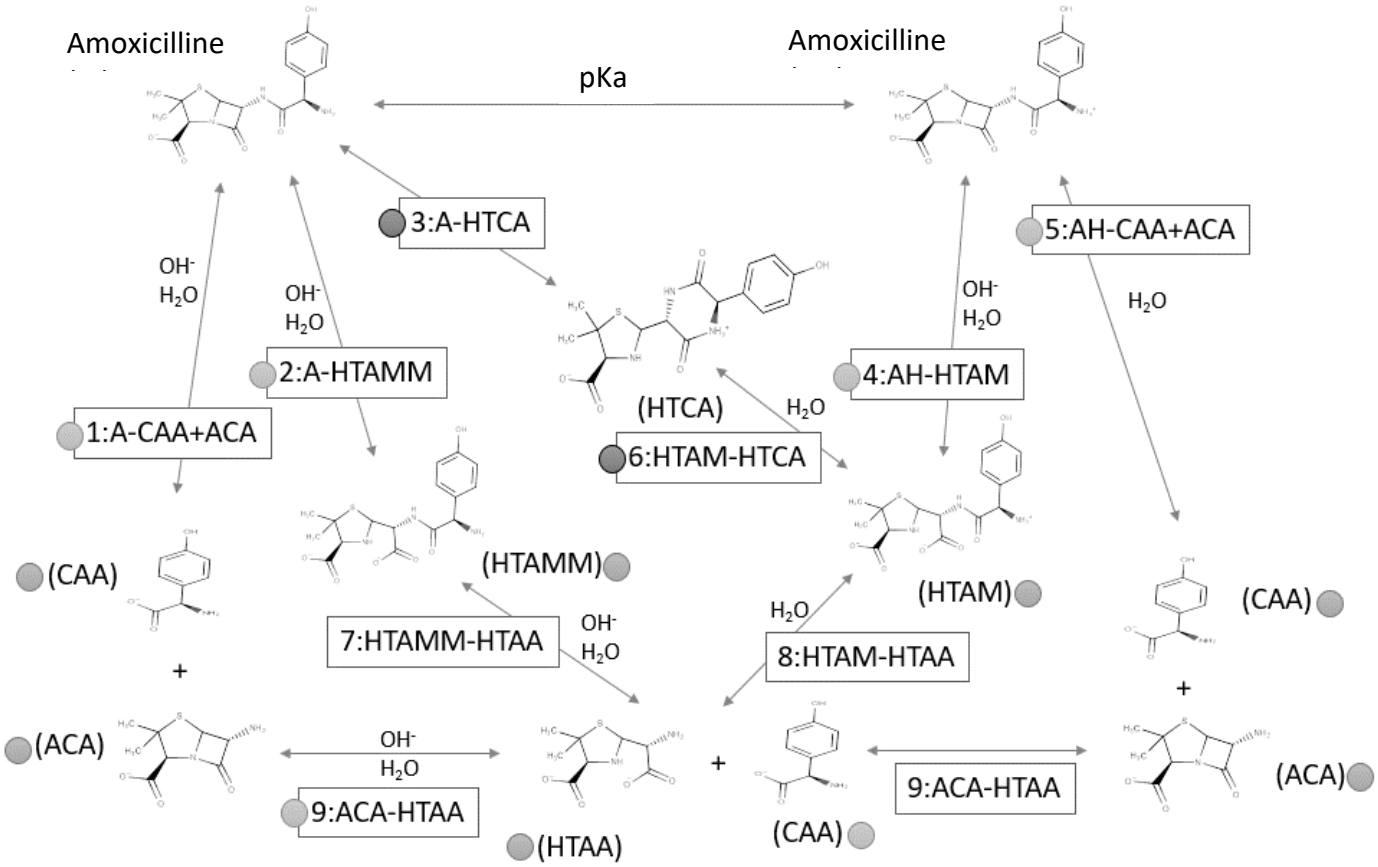


Figure 11: représentation schématique des voies de dégradation de l'amoxicilline.

Ensuite, les enthalpies libres de chaque voie réactionnelle doivent être calculées. Une voie a pu être modélisée dans le logiciel : la voie 5 : attaque de HA par H_2O. Les représentations 3D de cette attaque sont présentées Figure 12.

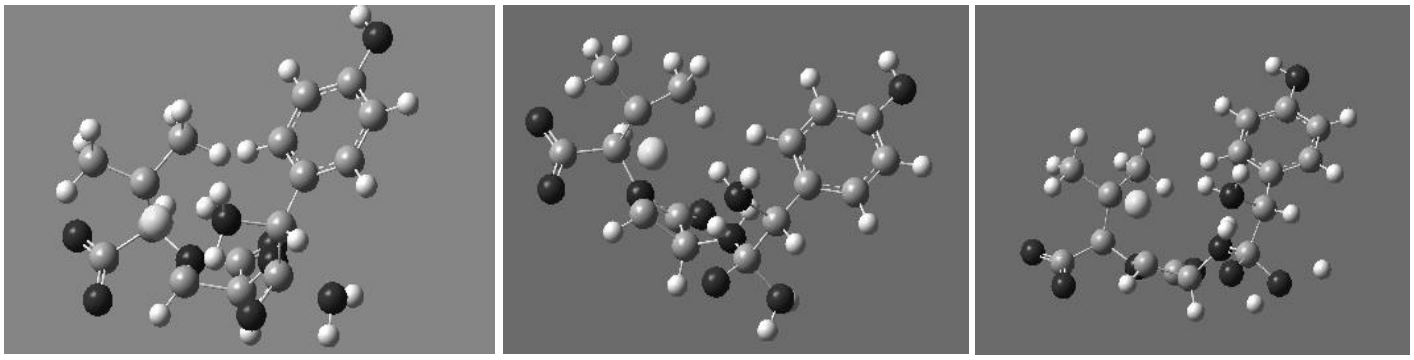


Figure 12 : représentation 3D de la voie de dégradation 5

Le calcul de l'enthalpie de chaque molécule a duré plusieurs semaines, à des niveaux de théorie peu avancés qui devront être affinés afin de pouvoir réaliser une prédiction plus fine des demi-vies. Le calcul de la voie de dégradation 5 présenté en Figure 12 a été réalisé en 19 jours avec le superordinateur du PRABI-LG. Au regard de la rentabilité par rapport aux temps de calculs, les autres voies n'ont pas été explorées.

2.5.4 Conclusion – Discussion

L'objectif de ce travail est de rechercher des conditions favorables de stabilité de l'amoxicilline par étude de stabilité prédictive totale (ESPT). Cette approche, déjà appliquée dans la littérature permettrait une prédiction totale des cinétiques de dégradation chimique d'une substance active par chimie numérique. Cependant, en l'état actuel, les calculs nécessitent une ressource informatique conséquente et en sont très chronophages. Deux solutions peuvent être proposées pour améliorer la vitesse des calculs. Tout d'abord la diminution du niveau de théorie appliquée. La conséquence sera une diminution de la précision des calculs. La seconde solution serait de travailler sur des fragments de la molécule d'amoxicilline, sans modéliser systématiquement l'intégralité de la molécule. Cependant, travailler sur un fragment entrainerait une perte significative de précision des calculs.

Cette méthode prédictive totale, prometteuse, semble à ce jour difficile à implémenter dans une PUI, du fait de la complexité des calculs. Cependant, l'évolution de la technologie informatique est rapide. Cette approche pourrait peut-être donner satisfaction dans quelques années.

3. Améliorer la stabilité d'une préparation d'amoxicilline en diffuseur

3.1 Contexte et objectif

La prise en charge ambulatoire des patients peut nécessiter l'instauration d'une Antibiothérapie Parentérale Ambulatoire (APA). C'est le cas des patients traités pour infection ostéo-articulaire profonde streptococcique. Dans ce cas, une antibiothérapie par amoxicilline intraveineuse à forte dose en perfusion continue pendant 6 semaines est recommandée.

Dans cette indication, le protocole de prise en charge proposé par le Centre de Référence des Infections Ostéo Articulaires Complexes (CRIOAC) de notre hôpital est l'instauration d'amoxicilline à forte dose soit 200 mg/kg/jour en perfusion continue. La préparation est réalisée par un(e) infirmièr(e) à domicile, par reconstitution puis dilution de 12 g d'amoxicilline dans un diffuseur Baxter de 240 mL soit 50 mg/mL, pour 24 heures. Le véhicule est le NaCl 0,9 %.

Cette formulation n'est pas stable, selon les spécifications de l'USP (C(t) > 90 % C(0)). En effet, Binsen et Al. démontrent que l'amoxicilline en solution présente une stabilité d'environ 6 heures à 50 g/L et d'environ 3 heures à 250 g/L [36]. Ces durées de stabilité ne sont pas compatibles avec les modalités d'administration actuelles.

Ainsi, le CRIOAC sollicite notre PUI pour d'une part confirmer la durée de stabilité dans les conditions d'utilisation actuelles (50 mg/mL, 25 °C et 32 C°, diffuseur Baxter) et d'autre part de développer une formulation et un plan d'administration compatible avec les recommandations. L'objectif est de développer une formulation d'amoxicilline forte dose stable adaptée à la réalisation d'une APA.

3.2 Amélioration de la stabilité d'une solution d'amoxicilline forte dose.

3.2.1 Développement et validation d'une méthode de dosage indicatrice de stabilité

3.2.1.1 Introduction

L'étude de la stabilité de l'amoxicilline en solution nécessite de (i) définir les attributs critiques de qualité pertinents et (ii) de mettre en place des outils analytiques appropriés pour le suivi de ces ACQ. Les choix techniques des modalités d'utilisation de l'outil peuvent impacter la qualité des résultats de l'étude. Cet outil et ces choix techniques doivent être présentés et discutés.

L'Attribut Critique de Qualité (ACQ) pertinent pour suivre la stabilité de cette préparation est la teneur en amoxicilline ainsi que de ses produits de dégradation. L'outil analytique approprié pour ce suivi est la Chromatographie Liquide Haute Performance avec détection UV. Cette technique permet la quantification de l'amoxicilline ainsi que la détection de ses produits de dégradation. Elle doit être indicatrice de stabilité. Les modalités de développement et de validation de la méthode d'analyse indicatrice de stabilité sont présentées ci-après.

3.2.1.2 Matériel et Méthode

Réactifs :

Tous les réactifs et solvants utilisés sont de qualité Réactif Analytique et sont utilisés sans purification supplémentaire. L'acétonitrile pour HPLC PLUS Gradient et l'hydroxyde de sodium sont obtenus auprès de Carlo Erba®, France. L'acide chlorhydrique était obtenu auprès de Sigma-Aldrich®, USA. Le sodium acétate cristallisé était obtenu auprès de COOPER®, France. L'eau pour préparation injectable (EPPI) était obtenue auprès de LAVOISIER® Chaix et du Marais, France. La solution de peroxyde d'hydrogène était obtenue auprès de GILBERT®, France. La spécialité commerciale d'amoxicilline contenant 2 g d'amoxicilline sodique est obtenue auprès du Laboratoire PANPHARMA®, France.

Équipements :

La séparation entre substance active, excipients et produits de dégradation a été réalisée par Chromatographie Liquide Ultra Haute Pression (UHPLC) Agilent modèle 1290 Infinity. Le détecteur utilisé est une barrette de diode. Le traitement et l'acquisition des données sont effectués à l'aide du logiciel Open Lab Control Panel.

Conditions chromatographiques :

Les conditions chromatographiques sélectionnées à l'issu du développement de la méthode de dosage sont présentées Tableau 8.

Tableau 9 : paramètres chromatographiques appliqués.

Paramètres	Conditions
Phase stationnaire	Biphényle ; 2,6 µm ; 250 mm × 4,6 mm ; Phénomenex®
Phase mobile	Eau PPI / Acétonitrile (98/2, v/v)
Débit	1 mL/min
Temps d'analyse	15 min
Température de colonne	25°C
Volume d'injection	10 µL
Longueur d'onde	273 nm
Temps de rétention	3,6 ± 0,3 min

Dégradation forcée :

L'objectif de la dégradation forcée est de générer à partir d'une substance active d'éventuels produits de dégradation. Ces produits de dégradations doivent être séparés sur chromatogramme du pic principal de substance active, et doivent faire l'objet d'un enregistrement de leurs caractéristiques analytiques : spectre UV, temps de rétention. La technique actuelle (HPLC-DAD) ne permet pas de disposer d'informations structurelles comme le rapport m/z. Un détecteur en spectrométrie de masse est en cours d'acquisition par le laboratoire. Les protocoles de recherche de produits de dégradation l'amoxicilline sont réalisés selon les recommandations du Groupe d'Évaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée (GERPAC) [43]. La spécialité commerciale d'amoxicilline est soumise à différentes conditions de dégradation : H^+, OH^-, hµ, H_2O_2, température. L'objectif est d'obtenir une dégradation comprise entre 10 et 20 % de la substance active. Une solution mère

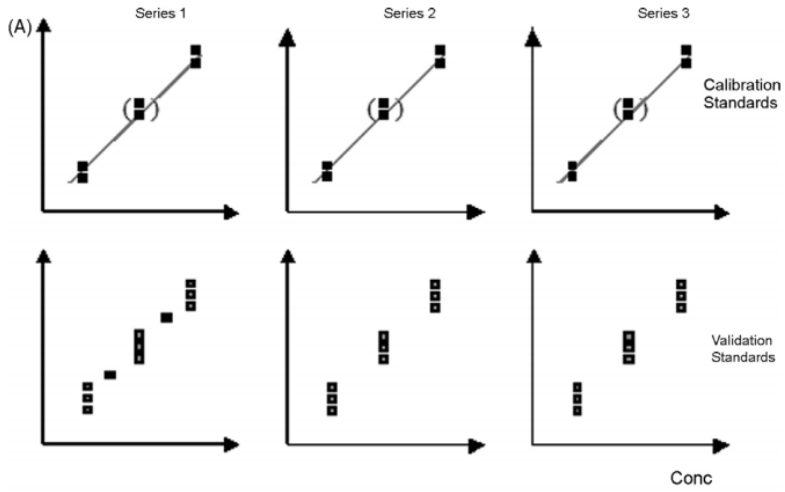
d'amoxicilline pure (CRS) est dégradée ainsi que le produit fini si celui-ci est formulé avec un excipient. La valeur cible de l'amoxicilline avant dégradation est de 250 µg/mL.

Validation méthode analytique :

La méthode d'analyse indicatrice de stabilité est validée conformément aux recommandations de la SFSTP, protocole V3 (Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques) [45]. Les paramètres de spécificité, linéarité, répétabilité, reproductibilité, justesse, du profil d'exactitude sont évalués. Le protocole et les valeurs cibles sont présentées Tableau 10. Les gammes de calibration sont réalisées à partir de poudre d'amoxicilline CRS fournie par Sigma-Aldrich, diluée dans l'eau PPI. Les gammes de contrôle sont réalisées à partir de solutions injectables commerciales (Panpharma®, Fougères, France) diluées dans du NaCl 0,9 % selon le même protocole que les solutions à reconstituer pour l'APA.

Tableau 10 : protocole de validation de la méthode analytique.

Protocole de validation



Paramètres	Modalité	Critères d'acceptation
Spécificité	Comparaison amoxicilline CRS, amoxicilline Panpharma®, éventuels excipients purs et blanc.	Pas d'interférence entre amoxicilline CRS, amoxicilline Panpharma®. Celle-ci ne contient pas d'excipients. Pas de différence entre spectres et temps de rétention d'amoxicilline CRS et amoxicilline commerciale.
Linéarité	Deux gammes de trois points par jour pendant trois jours (soit N = 6 points de calibration par jour)	$R^2 > 0,995$
Répétabilité	Trois gammes de trois niveaux de contrôles par jours pendant un jour (N = 9)	Coefficient de variation ≤ 3 %
Reproductibilité	Trois gammes de trois niveaux de contrôles par jours pendant trois jours par trois opérateurs (N = 27)	Coefficient de variation ≤ 6 %
Justesse	Trois gammes de trois niveaux de contrôles par jours pendant trois jours (N = 27)	Coefficient de variation ≤ 5 %
Profil d'exactitude	$\lambda \leq 10$ % $\beta = 80$ %	

Les résultats de cette validation analytique sont présentés à la suite.

3.2.1.3 Résultats

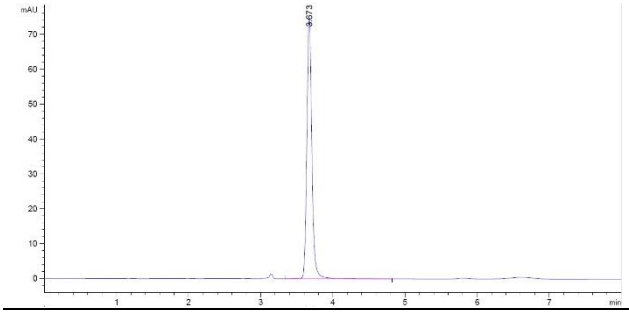
La méthode de dosage indicatrice de stabilité a été développée conformément aux recommandations du GERPAC et de la SFSTP. Les résultats de la dégradation forcée puis de la validation de méthode sont présentés ci-dessous.

La spécialité commerciale d'amoxicilline Panpharma® à 12 mg/mL a été soumise à différentes conditions de dégradation (H^+, OH^-, hμ, H_2O_2, température 80°C). Cela a permis la mise en évidence des produits de dégradation dont les chromatogrammes sont présentés Tableau 11 : chromatogrammes des dégradations forcées.

Tableau 11 : chromatogrammes des dégradations forcées

Temoin amoxicilline 12 mg/mL (après dilution)

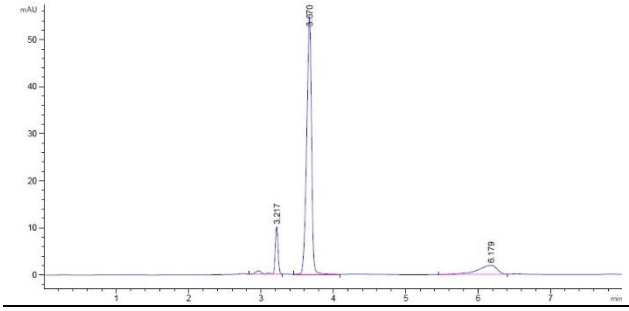
Chromatogramme



Temps de rétention (mn)	Identification	AUC (mAU)	AUC totale (%)
3,6	Amoxicilline	360,64	100 %

Milieu amoxicilline 12 mg/mL acide HCl 0,1 M 3H (puis neutralisation)

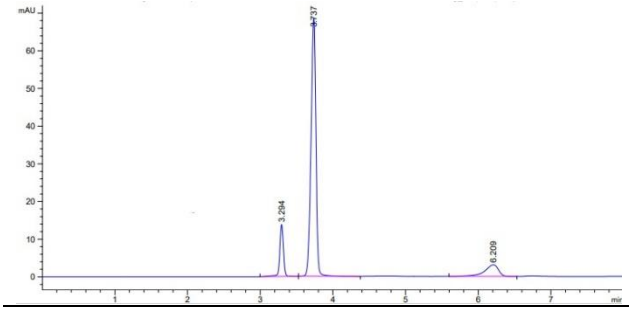
Chromatogramme



Temps de rétention (mn)	Hypothèses d'identification	AUC (mAU)	AUC totale (%)
3,2	Acide pénicilloique ou Acide penilloique	32,6	10,14
3,67	Amoxicilline	253,17	78,74
6,2	Hydoxyphenylglyl-amoxicilline	35,55	11,12
Total		321,52	100

Milieu amoxicilline 12 mg/mL basique NaOH 0,1 M 30 mn (puis neutralisation)

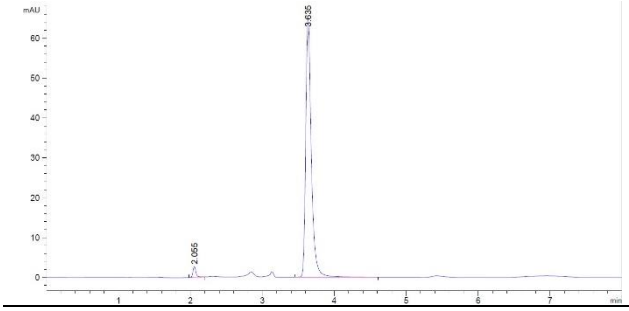
Chromatogramme



Temps de rétention (mn)	Hypothèses d'identification	AUC (mAU)	AUC totale (%)
3,2	Acide pénicilloique ou Acide penilloique	38,12	10,89
3,67	Amoxicilline	285,6	81,12
6,2	Hydoxyphenylglyl-amoxicilline	28,10	7,99
Total		351,82	100

Milieu amoxicilline 12 mg/mL 80 °C pendant 3 H

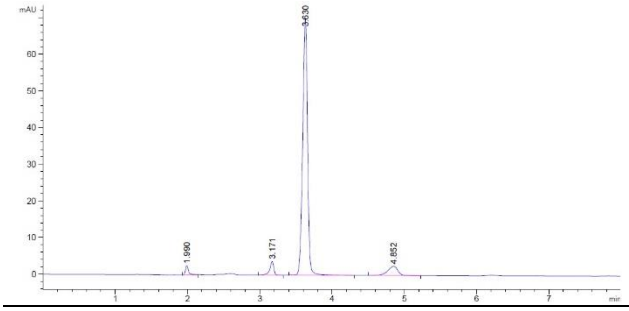
Chromatogramme



Temps de rétention (mn)	Hypothèses d'identification	AUC (mAU)	AUC totale (%)
2,06	Acide pénicilloique ou Acide penilloique	8,42	3,28
3,64	Amoxicilline	248,28	96,72
Total		256,7	100

Milieu amoxicilline 12 mg/mL exposé a 365 nm pendant 24 heures

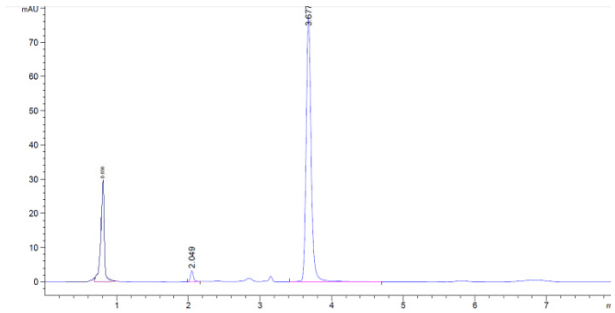
Chromatogramme



Temps de rétention (mn)	Hypothèses d'identification	AUC (mAU)	AUC totale (%)
1,9	Acide pénicilloique ou Acide penilloique	7,44	2,00
3,17	Acide pénicilloique ou Acide penilloique	13,87	3,72
3,63	Amoxicilline	326,87	87,80
4,85	Diketopiperazine amoxicilline	24,11	6,48
Total		372,29	100

Milieu amoxicilline 12 mg/mL exposé au H_2O_2 0,01 % pendant 3 heures

Chromatogramme

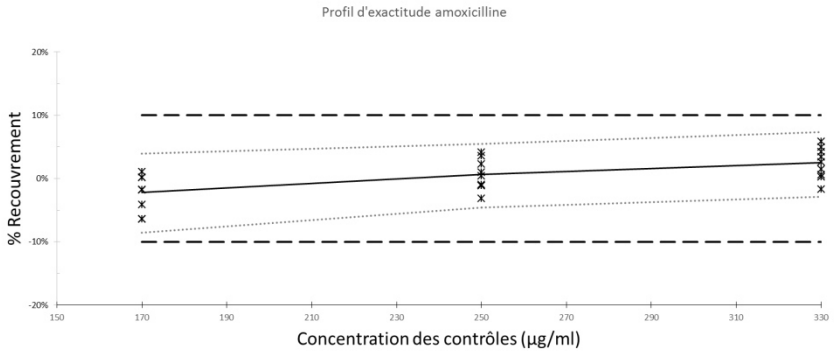


Temps de rétention (mn)	Hypothèses d'identification	AUC (mAU)	AUC totale (%)
2,05	Acide pénicilloique ou Acide penilloique	13,42	3,71
3,67	Amoxicilline	348,20	96,29
Total		361,62	100

Les pourcentages de dégradation de l'amoxicilline par rapport à la valeur initiale sont compris entre 4 % et 30 %. Des produits de dégradation sont mis en évidence à tr (min) = 2,0 ; 3,2 ; 4,8 et 6,2. Des hypothèses quant à la nature de ces produits de dégradation sont proposées, mais ils n'ont pas été identifiés. Seules l'évolution de la concentration de l'amoxicilline et l'apparition / l'évolution de l'AUC de ces produits de dégradation sont suivies.

Les paramètres de validation de la méthode d'analyse sont présentés Tableau 12.

Tableau 12 : paramètres de validation de la méthode analytique

Paramètres	Résultat	Acceptation
Spécificité	Absence d'interférences Spectres CRS et Panpharma® corrélés	Conforme
Linéarité	R^2 = 0,999	Conforme
Répétabilité	CV QCB = 0,76 % CV QCM = 1,90 % CV QCH = 1,42 %	Conforme
Reproductibilité	CV QCB = 3,05 % CV QCM = 2,29 % CV QCH = 2,34 %	Conforme
Justesse	Recouvrement moyen : 0,29 %	Conforme
Profil d'exactitude - - - = λ (≤ 10 %) …… = β (80 %) x : QC Ligne continue : moyenne par niveaux.		

La méthode analytique développée permet la quantification de l'amoxicilline en solution NaCl 0,9 % ainsi que la détection de ses principaux produits de dégradation.

3.2.1.4 Discussion – Conclusion

Une méthode analytique permettant l'identification et la quantification de l'amoxicilline en solution NaCl 0,9%, ainsi que l'identification de ses principaux produits de dégradation est validée. La méthode est simple à utiliser et permet d'obtenir des résultats rapidement. Cet outil, même s'il ne permet pas l'identification ou la quantification des produits de dégradation de l'amoxicilline, est suffisant pour réaliser une étude de stabilité prospective.

3.3 Développement d'une formulation

Un outil analytique permettant la quantification de l'amoxicilline diluée dans NaCl 0,9 % ainsi que la détection de ses principaux produits de dégradation est développé. Celui-ci permet le suivi des concentrations dans les différentes formulations de cette étude.

La recherche d'une formulation stable d'amoxicilline est réalisée en cinq étapes. Premièrement, l'état des lieux concernant la formulation actuelle est réalisé. Puis, une première optimisation des concentrations et des dispositifs d'administration est réalisée. Ensuite, un pH optimal sera recherché. Des solutions aux problématiques autour de ce pH seront prospectées. Enfin, un choix de formulation sera effectué.

3.4 Formulation amoxicilline 50 mg/mL : état des lieux.

3.4.1 Contexte et objectif

Le CRIOAC recommande pour la prise en charge des IOA l'administration intraveineuse d'amoxicilline 200 mg/kg/jour pendant 6 semaines. L'antibiotique est reconstitué quotidiennement par un(e) infirmier(e) selon le protocole suivant :

- ✓ Amoxicilline 2 G Poudre à reconstituer (x 6)
- ✓ NaCl 0,9 % 240 mL
- ✓ Folfuseur Baxter® LV 10 mL/h

Le patient reçoit pendant 24 heures une solution initialement de 50 mg/mL d'amoxicilline diluée dans du NaCl 0,9 %. Cette solution est maintenue à température ambiante puis à 32 °C lorsqu'elle est branchée au patient. Dans un premier temps, une évaluation de la stabilité chimique de l'amoxicilline à 25 °C selon ce protocole de reconstitution est réalisée.

3.4.2 Matériel et méthode

Pour évaluer la stabilité chimique de l'antibiotique, N = 3 solutions sont reconstituées selon ce protocole et conservées en enceinte climatique (25 °C / 60 % HR). Les solutions sont stockées dans des flacons en verre inerte de type II préalablement lavés. Une mesure du pH des solutions et des quantifications de l'amoxicilline sont réalisées à H0, H2, H4, H6, H12, H24 et H96.

3.4.3 Résultats

Les résultats de ces quantifications et mesures de pH sont présentés Tableau 13.

Tableau 13 : résultats de l'étude de stabilité de l'amoxicilline 50 g/L à 25 °C. Résultats exprimés en pourcentage de molécule intacte restant moyen (%C(t)/C(0)).

Amoxicilline 50 mg/mL								
Temps (heures)	0	2	4	6	12	24	48	96
Pourcentage dégradation moyen ; (Coefficient de Variation en %) (N = 3)	100 ; (3,47)	92,2 ; (4,67)	87,8 ; (1,97)	87 ; (1,12)	80 ; (2,21)	78,92 ; (10,06)	69,8 ; (6,11)	46,2 ; (2,18)
pH	8,75	8,75	8,73	8,70	8,69	8,57	8,52	8,52

La courbe de dégradation de l'amoxicilline en fonction du temps est présentée Figure 13.

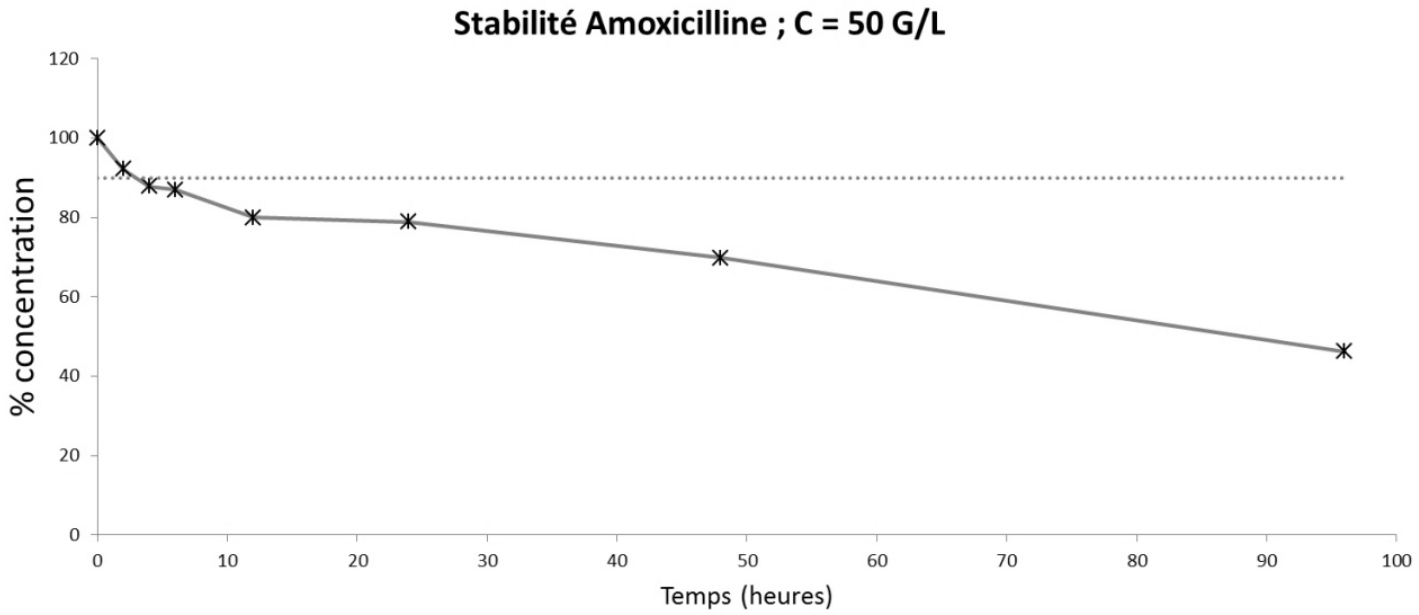


Figure 13 : évolution du pourcentage de la concentration de l'amoxicilline en fonction du temps. La ligne n pointillés représente le seuil d'acceptation (90 %).

La formulation actuelle, amoxicilline 50 mg/mL, atteint le seuil de spécification de 10 % en 4 à 6 heures environ. Or la solution est administrée pendant 24 heures. À ce temps, la concentration en amoxicilline a chuté d'environ 22 %. Sont alors administrées au patient une dose insuffisante en antibiotique et une dose significative en produits de dégradation.

3.4.4 Discussion et conclusion

Cet état des lieux démontre que le protocole de reconstitution et les modalités d'administration de l'APA par amoxicilline dans le cadre des IOA n'apportent pas une dose suffisante en antibiotique et entraine l'administration de produits de dégradation.

Le sous dosage en antibiotique génère d'une part un risque d'échec au traitement, et d'autre part une probabilité d'induire des résistances bactériennes à l'antibiotique. De plus, les produits de dégradation de l'amoxicilline présentent un risque allergisant par formation d'haptènes en se combinant aux protéines autologues.

Ainsi la durée de stabilité dans les conditions d'utilisation actuelles (50 mg/mL, 25 °C et 32 C°, diffuseur Baxter) n'est pas satisfaisante. Une stabilisation de cette formulation doit être envisagée. Comme présenté précédemment, la littérature indique que la stabilité de l'amoxicilline est concentration dépendante. La première étape consistera à diluer la formulation. Une recherche d'un diffuseur adapté est réalisée. Les résultats de l'étude de stabilité préliminaire serviront de comparatif.

3.5 Recherche d'un conditionnement adapté

Comme présentées précédemment, les données bibliographiques indiquent que la dégradation de l'amoxicilline est concentration dépendante. Une dilution de la solution est envisagée. La première étape de ce travail est une recherche d'un conditionnement adapté à cette dilution.

Le cahier des charges est :

- ✓ le Dispositif Médical (DM) doit être autorisé (marquage CE),
- ✓ le DM doit être stérile et à usage unique,
- ✓ la durée de perfusion adaptée au passage d'un(e) IDE au domicile du patient soit toutes les 12 heures ou toutes les 24 heures,
- ✓ le volume du ballon doit permettre une dilution suffisante de l'amoxicilline,
- ✓ la membrane doit être compatible avec l'antibiotique, ainsi que le capillaire de perfusion,

- ✓ l'embout de perfusion doit être Luer-Lock,
- ✓ le dispositif ne doit pas ou peu contraindre le déplacement du patient.

Le diffuseur retenu est le diffuseur portable AutoFuseur® d'Ace Medical. Le dispositif médical Stérile est disponible au CHU de Lyon, dispose d'un marquage CE, sa membrane en silicone a déjà été validée avec l'amoxicilline, de même que sa tubulure en PVC, il dispose d'un embout Luer Lock, est livré avec un conditionnement pour le transport. Son volume peut aller jusqu'à 550 mL. De plus, un régulateur de débit terminal permet de l'adapter à une administration de 12 heures, de 24 heures ou plus.

Le dispositif d'administration retenu permet la dilution de l'amoxicilline en solution reconstituée. Ainsi peut-on espérer une augmentation de la stabilité de la formulation. D'autre part, d'autres paramètres favorisant la stabilité du médicament sont explorés.

3.6 Recherche d'un pH favorable

3.6.1 Contexte et objectif

Lors de la précédente étape, nous avons sélectionné un dispositif médical permettant une APA dans des conditions optimisées de sécurité clinique et de stabilité chimique. Au cours de cette partie, un environnement prévenant la décomposition chimique de l'amoxicilline sera recherché.

Nous savons à la suite de l'étude préliminaire de stabilité chimique de l'amoxicilline 50 mg/mL que la molécule se dégrade rapidement, mais également que le pH de la solution préparée est basique (pH ≈ 8,6). Or, le noyau lactame des β-lactamine est connu pour être une structure chimique particulièrement sensible aux mécanismes d'hydrolyse. Que le mécanisme inductif soit acide (H^+) ou basique (OH^-), l'hydrolyse conduite à l'ouverture du noyau lactame et à la formation d'acide pénicillinoïque comme présenté en Figure 14.

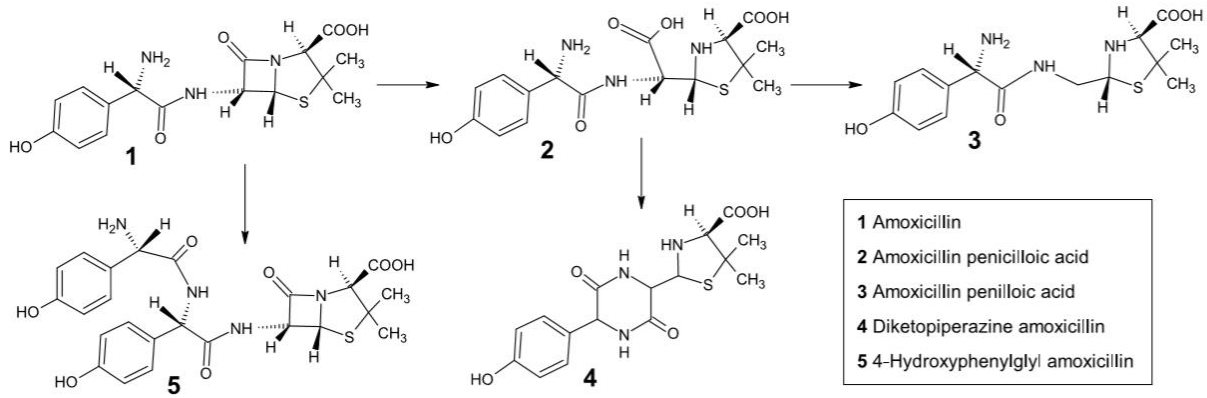


Figure 14 : voies de dégradation de l'amoxicilline en conditions environnementales, d'après Nägele et Al. [42].

De plus, des exemples de la littérature montrent une stabilité des pénicillines pour des pH neutres. C'est le cas de la céfuroxime [47], pour laquelle la stabilité est maximale à pH compris entre 4 et 7, comme présenté Figure 15.

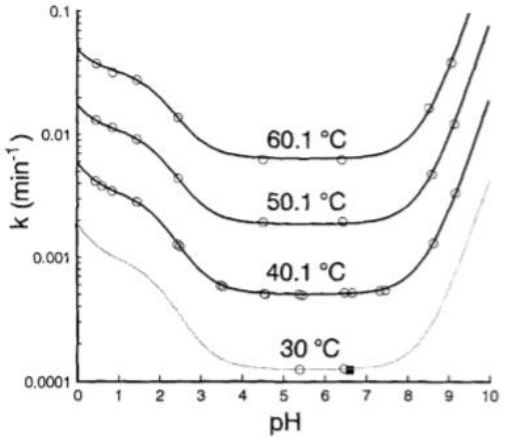


Figure 15 : constante de dégradation cinétique k (min^{-1}) en fonction du pH et de la température (°C), d'après Wang et Al.

Les pénicillines ayant pour caractéristique chimique commune le noyau β-lactame, sont toutes sensibles à une hydrolyse pH et température dépendante. Il serait alors intéressant de tamponner et de réfrigérer la solution d'amoxicilline préparée afin d'optimiser sa stabilité

chimique. L'objectif de cette 3e étape est l'évaluation de la stabilité chimique de l'antibiotique à 12 mg/mL à différentes températures et différents pH.

3.6.2 Matériel et Méthode

Quatre conditions de pH sont étudiées : pH = 6,2 ; 6,75 ; 7,2 et 8,75. La solution non tamponnée (pH = 8,75) est considérée comme point de départ. Elle est stockée à 25 °C et analysée à H0, H2, H4, H6, H12, H24 et H30 par la méthode HPLC-UV décrite précédemment.

Les solutions à pH 6,2 et 6,75 sont obtenues par utilisation de solution tampon de citrate disodique 0,1 M (pKa 6,4) et ajustées par NaOH 0,1 M après l'ajout de l'amoxicilline.

La solution à pH 7,2 est obtenue par utilisation de solution tampon d'acide monohydrogénophosphorique disodique 0,1 M (pKa 7,2) ajustée par NaOH 0,1 M après l'ajout de l'amoxicilline.

Les solutions tamponnées (N = 1 par condition) sont stockées à 25 ± 2 °C et 5 ± 3 °C et analysées aux temps H0, H4, H24, H48, H72 et H240 par la méthode HPLC-UV décrite précédemment.

3.6.3 Résultats

Les résultats de l'étude de stabilité de l'amoxicilline (AMX) 12 mg/mL à 25 °C à pH = 8,75 sont présentés Tableau 14.

Tableau 14 : résultats étude de stabilité AMX 12 mg/mL à 25 °C à pH 8,75. Résultats exprimés en pourcentage par rapport à H0 (N = 1).

Solution	pH	Température	H0	H2	H4	H6	H12	H24	H30
AMX 12 mg/mL	8,75	25 °C	100	94,8	96,56	95,77	94,78	93,38	89,56

Une représentation graphique en base logarithmique est également proposée Figure 16. La valeur limite est le seuil USP de 10 % de dégradation (Log(90) = 1,95).

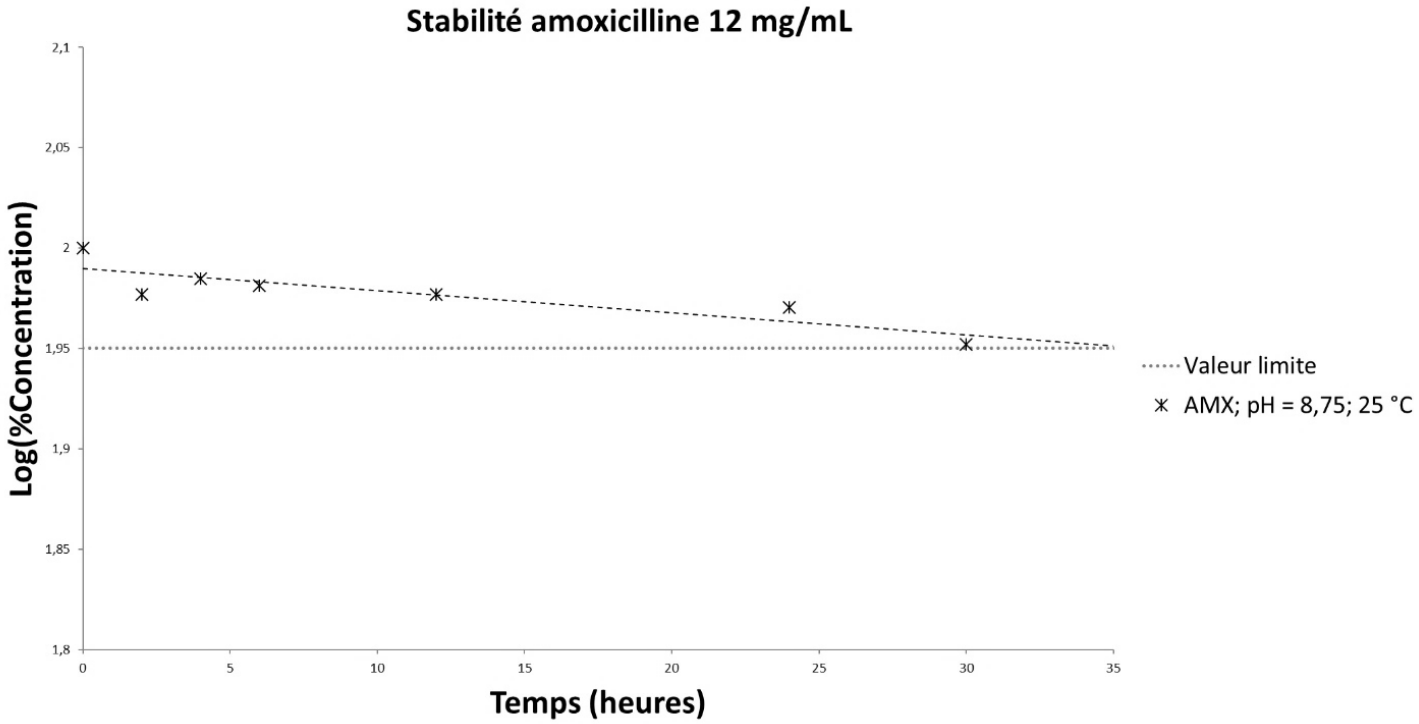


Figure 16 : stabilité de l'amoxicilline 12 mg/mL à 25 °C et pH 8,75, en base logarithmique.

Les résultats de l'étude de stabilité de l'amoxicilline (AMX) 12 mg/mL à 25 °C et 5 °C, à pH = 6,2 ; 6,75 ; 7,2 sont présentés Tableau 15.

Tableau 15 : résultats étude de stabilité AMX 12 mg/mL à 25 °C et 5 °C, à pH 6,3; 6,75 et 7,2. Résultats exprimés en pourcentage par rapport à H0 (N = 1).

Solution	pH	Température	H0	H4	H24	H48	H72	H240
AMX 12 mg/mL	6,3	25°C	100	101,9	100,3	97,1	93,5	80,1
AMX 12 mg/mL	6,3	4 °C	100	100,3	100,8	97,9	95,3	88,6
AMX 12 mg/mL	6,75	25°C	100	99,1	97,7	95,6	93,6	79,8
AMX 12 mg/mL	6,75	4°C	100	99,5	98,7	97,3	97,3	94,5
AMX 12 mg/mL	7,2	25°C	100	99,1	97	93,4	91,2	74,6
AMX 12 mg/mL	7,2	4°C	100	98,5	96,3	96,2	95,2	89,14

Une représentation graphique en base logarithmique est également proposée Figure 17.

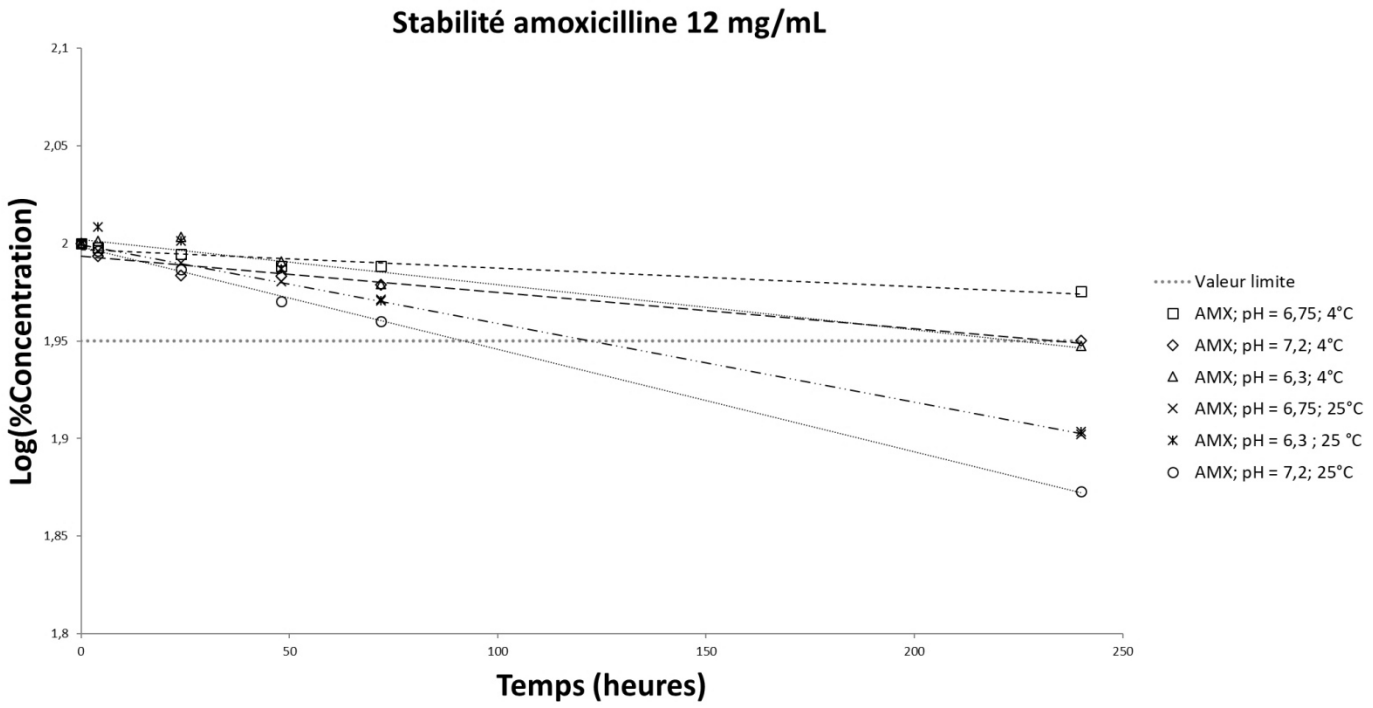


Figure 17 : stabilité de l'amoxicilline 12 mg/mL à 25 °C et 5 °C, à pH 6,3 ; 6,75 et 7,2 (pourcentage de concentration en base Log).

Il apparait que la solution à pH = 6,75 maintenue à 5 °C apporte la meilleure stabilité. Cependant, un phénomène de précipitation / cristallisation macroscopique a été observé pour toutes les solutions réfrigérées.

3.6.4 Discussion et conclusion

Au cours de cette étape, une recherche de conditions optimales de préparation et de stockage de l'amoxicilline en solution est réalisée. Le choix des conditions à explorer s'appuie sur une analyse bibliographique. Ces conditions font varier pH (6,2 ; 6,75 ; 7,2) et température (5 ° C et 25 °C). Cette pré-étude a été réalisée avec N = 1 échantillon par environnement. Si cela constitue un échantillon faible, les résultats obtenus sont par la suite à améliorer en augmentant la quantité de l'échantillonnage. Cependant, ce « screening » simple a permis de mettre en évidence une zone de pH optimal de stabilité.

Les conditions de stabilité optimales apparaissent comme étant à pH 6,75 à température 5 °C. Dans ces conditions, plusieurs centaines d'heures de durée de stabilité peuvent être espérées, contre une trentaine à pH 8,75. Cette durée de stabilité pourrait convenir à une reconstitution anticipée pour un usage ambulatoire. Cependant, pour toutes les températures à 5 °C, un phénomène de précipitation / cristallisation macroscopique est observé. Ce phénomène contre-indique l'utilisation de la solution par voie intraveineuse.

L'étape suivante consistera donc à rechercher un solubilisant ou un inhibiteur de cristallisation.

3.7 Recherche d'un inhibiteur de cristallisation

3.7.1 Contexte et objectif

L'amoxicilline en solution à forte dose (12 mg/mL) tamponnée de manière adéquate (pH 6,75) et réfrigérée présente (i) une stabilité adaptée à son utilisation en APA, mais également (ii) un phénomène de précipitation / cristallisation macroscopique. Ce phénomène est bien connu pour cette molécule.

En effet, plusieurs études décrivent un phénomène d'insolubilité température et pH dépendants. Une illustration est proposée en Figure 18.

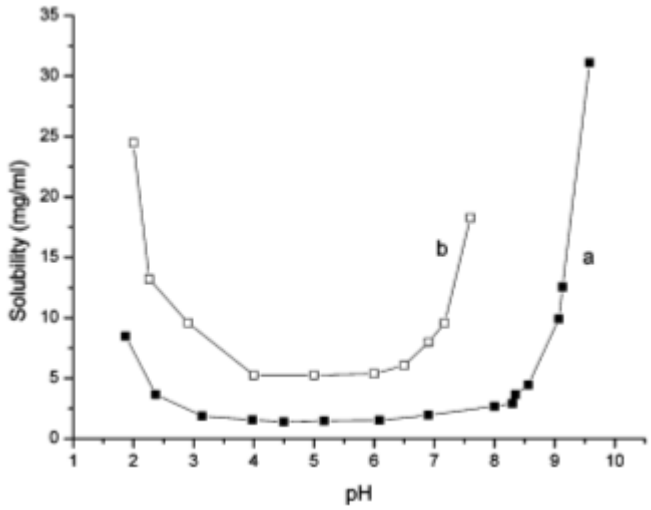


Figure 18 : solubilité de l'amoxicilline en fonction du pH à 4 °C (a) et 37 °C (b), d'après Feng et Al. [48].

De plus, la problématique est bien connue des cliniciens. De nombreux cas de cristallisation urinaire macroscopique sont rapportés dans la littérature [49]. En 2015, Hentzien et Al. décrivent un cas rapporté de cristallurie macroscopique représenté en Figure 19.

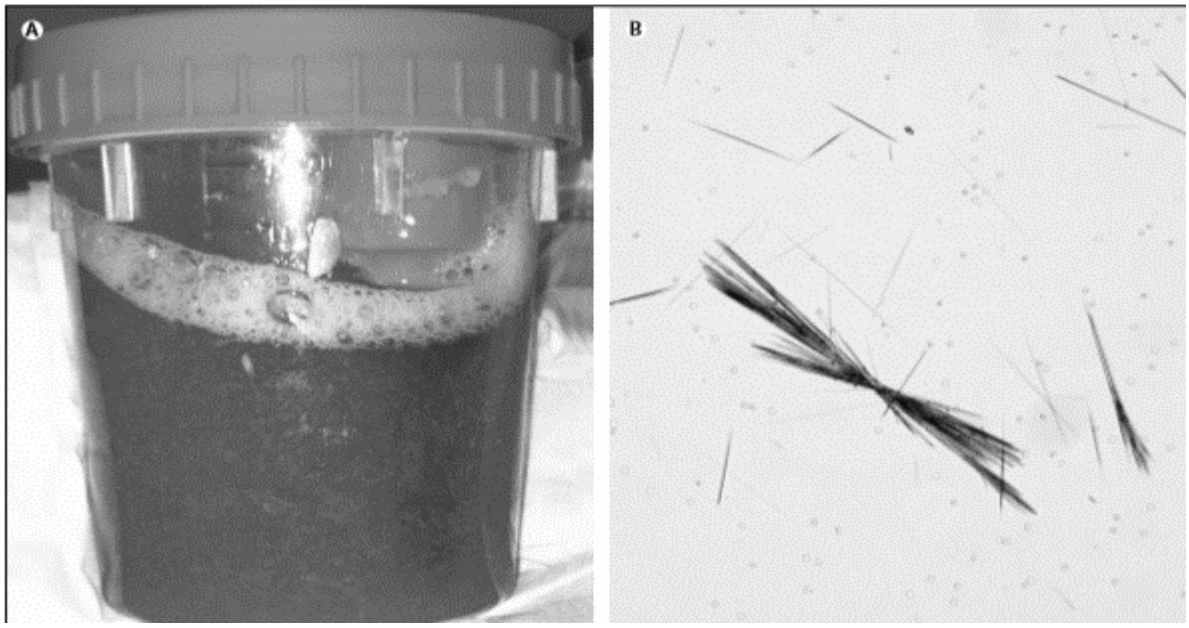


Figure 19 : cristallurie macroscopique et microscopique, d'après Hentzien et Al.

La cristallisation est un phénomène physique correspondant à un changement d'état, d'une phase gazeuse ou liquide, à une structure solide (le cristal) de structure régulière et organisée.

La cristallisation a lieu en trois étapes : sursaturation, nucléation et croissance cristalline. La sursaturation est la présence en solution d'une molécule à concentration supérieure à sa concentration de solubilité. La nucléation, intervenant dans une solution supersaturée, est la formation de germes de cristaux, ou « *nuclei* ». Enfin, lorsque les germes ont dépassé une taille critique, le cristal se met à croître : c'est la phase de croissance.

Les objectifs de cette 4e étape sont de caractériser la cristallisation de l'amoxicilline, puis de trouver une méthodologie ou un excipient pour la prévenir.

3.7.2 Matériel et méthode

L'objectif est de décrire la cristallisation de l'amoxicilline puis de trouver une méthodologie pour prévenir ce phénomène.

Dans un premier temps, une caractérisation du phénomène de précipitation/cristallisation et une compréhension des mécanismes y conduisant est réalisée.

Il sera tout d'abord recherché la concentration de saturation à 25 °C et pH = 6,5. Une gamme de concentration croissante en amoxicilline est réalisée. La gamme de concentration (10 ; 12 ; 15 ; 20 ; 25 ; 30 mg/mL) à pH 6,5 est conservée à température 25 °C. Les solutions, reconstituées en NaCl 0,9 %, acidifiées par une solution de HCl 0,1 M sont conservées dans des flacons en PVC à bouchon rouges (pots pour prélèvement d'urine). Un échantillon de chaque solution est centrifugé puis quantifié par la méthode HPLC-UV décrite précédemment. Les temps d'analyse sont H0, H18, H40, H88 et H144.

Dans un second temps, la concentration de saturation à 5 °C et pH = 6,5 est recherchée. La gamme de concentration en amoxicilline est 5 ; 10 ; 12 ; 15 ; 20 ; 25 et 30 mg/mL. Les concentrations d'amoxicilline en solution sont mesurées à H24 et comparées aux théoriques H0.

Enfin, une solution permettant de prévenir la formation de cette cristallisation est recherchée. Pour cela, deux stratégies sont étudiées. La première consistera à augmenter la solubilité de l'amoxicilline en solution. La seconde consistera à inhiber la cristallisation de l'amoxicilline.

Pour augmenter la solubilité de l'amoxicilline en solution, plusieurs solubilisants sont étudiés. L'amoxicilline étant une molécule hydrophile (LogP = -2,3), les surfactants ne seront pas efficaces. La molécule est présentée dans la pharmacopée comme étant très soluble dans l'éthanol. Les solubilisants étudiés sont des excipients communs possédant des fonctions OH ou des fonctions cétoniques proposés par le Handbook of Pharmaceutical Excipients Vème édition [50]. Ensuite, deux inhibiteurs de cristallisation sont étudiés : le citrate de sodium et le chlorure de magnésium. Les solutions de chaque excipient sont étudiées à forte dose sur N = 3 solutions

d'amoxicilline 20 mg/mL conservées à 5° C. Deux pH sont étudiés : 6,5 et 7,2. Les résultats sont considérés comme non conformes si au moins une solution présente une cristallisation macroscopique.

3.7.3 Résultats

La recherche de la concentration saturante à pH 6,5 et température = 25 °C est présentée Tableau 16 et en Figure 20.

Tableau 16 : évolution des concentrations (mg/mL) de chaque solution (N = 1) aux temps définis (heures).

		Concentrations mesurées (mg/mL) aux temps définis (heures)				
		H0	H18	H40	H88	H144
Concentrations théoriques (mg/mL)	10	9,66	9,82	11,37	9,70	9,55
	12	12,89	12,66	14,15	12,57	12,06
	15	14,97	15,53	17,04	14,59	12,10
	20	18,89	20,14	22,40	18,72	10,81
	25	26,59	24,50	26,27	21,59	11,65
	30	28,99	28,52	31,34	17,98	13,13

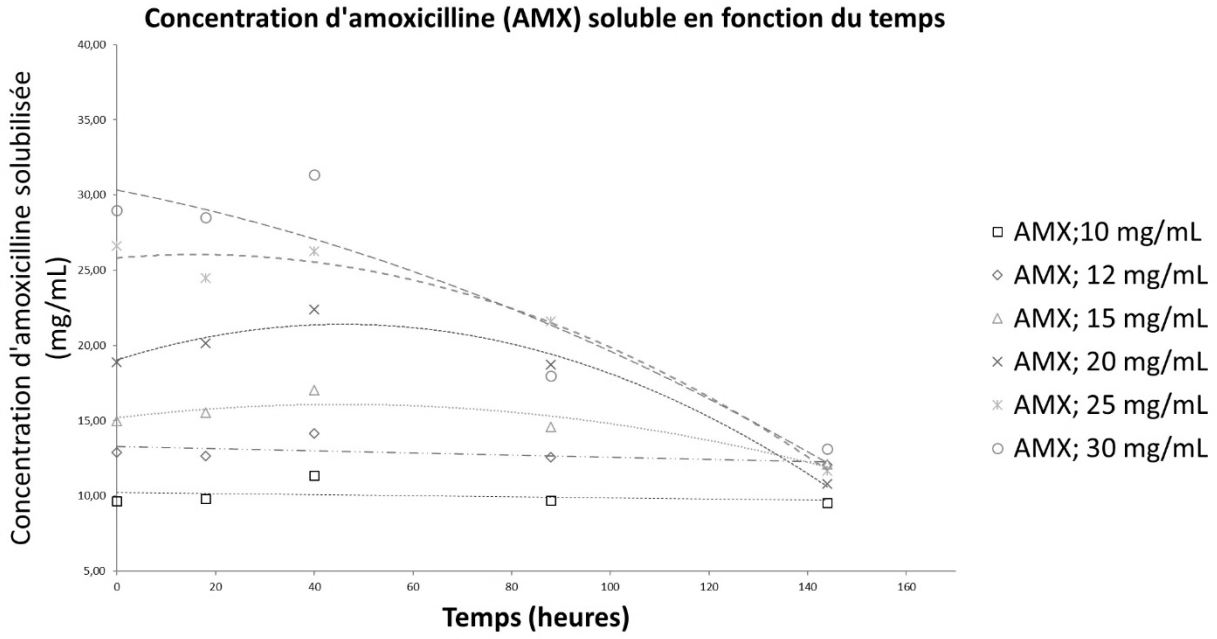


Figure 20 : évolution des concentrations d'amoxicilline (mg/mL) à pH = 6,5 aux temps d'analyse définis et après centrifugation.

Pour les solutions de 15 mg/mL à 30 mg/mL, des précipitations macroscopiques sont observées à partir de 24 heures. Ces aspects troubles n'apparaissent pas immédiatement mais après quelques heures. Le mécanisme est donc lent. Cependant, une ultrasonication peut induire l'apparition du trouble. L'aspect macroscopique à 48 heures est présenté Figure 21.

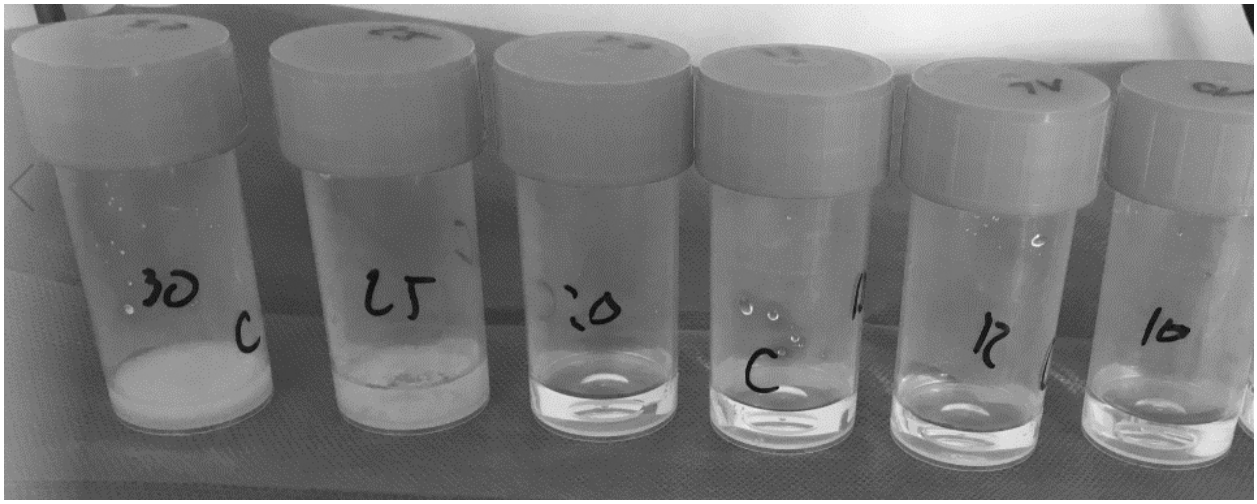
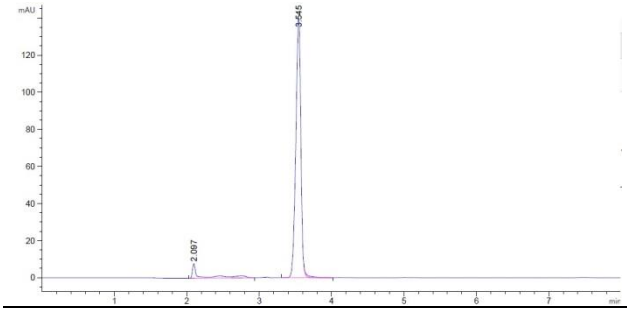


Figure 21 : aspect macroscopique des solutions d'amoxicilline à 48 heures, pH 6,5 et température 25 °C. Les solutions à 15 ; 20 ; 25 et 30 mg/mL présentent une précipitation macroscopique.

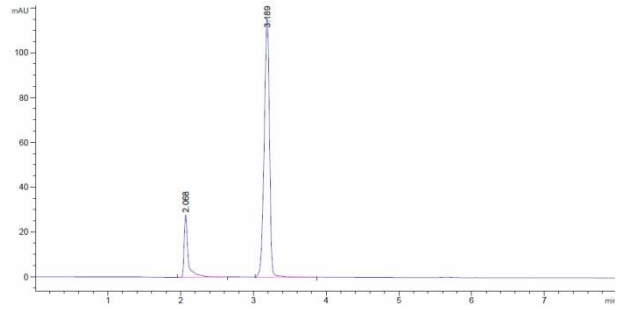
Cette précipitation n'a pas été distinctement objectivée via l'analyse en HPLC-UV. Les concentrations en solution après centrifugation ne s'effondrent pas immédiatement. La diminution de la concentration observée à partir de 48 heures pourrait bien être une combinaison de cristallisation et / ou de vraie dégradation chimique. Le Tableau 17 présente deux chromatogrammes représentant le dosage par HPLC-UV de l'amoxicilline 25 mg/mL à pH = 6,2 puis après 88 heures à 25 °C. Celui-ci montre (i) une diminution de la concentration en amoxicilline (- 26,7 %) et une augmentation de l'un de ses produits de dégradation (pouvant correspondre à l'acide pénicilloïque ou à l'acide penilloïque).

Tableau 17 : chromatogramme des solutions d'amoxicilline 25 mg/mL à pH 6,2 immédiatement après fabrication et après 88 heures à 25 °C.

Amoxicilline 25 mg/mL à H0 ; pH = 6,5

Chromatogramme	Temps de rétention (mn)	Identification	AUC (mAU)
	2,10	Acide pénicilloique ou Acide penilloique ?	54,11
	3,55	Amoxicilline	888,21

Amoxicilline 25 mg/mL à H88 (après centrifugation, précipité macroscopique) ; pH = 6,5

Chromatogramme	Temps de rétention (mn)	Hypothèses d'identification	AUC (mAU)
	2,07	Acide pénicilloique ou Acide penilloique ?	96,51
	3,19	Amoxicilline	648,34

Ainsi, une combinaison de précipitation et de dégradation peut être à l'origine de la diminution des concentrations en amoxicilline dans les mélanges. Si le nombre d'essais par solution est restreint (N = 1), l'observation du phénomène macroscopique permet toutefois de définir une concentration de saturation comprise entre 10 et 15 mg/mL à pH = 6,5 et 25 °C, à confirmer sur un nombre d'essai plus significatif (N = 3).

Ensuite, les résultats de la gamme réfrigérée sont présentés Tableau 18. Contrairement aux essais à 25 °C, ces essais réfrigérés ont été réalisés avec N = 3 solutions.

Tableau 18 : concentrations en amoxicilline mesurées (mg/mL) après 24 heures au réfrigérateur, N = 3 solutions. Moyenne et pourcentage de perte par rapport à la concentration théorique.

Concentrations théoriques (mg/mL)	Concentrations mesurées (mg/mL) après 24 heures au réfrigérateur			Concentrations moyennes mg/mL (CV %)	% Perte
5	Perte échantillon	4,16	4,16	4,16 (0)	-16,80%
10	9,54	7,63	8,53	8,57 (11)	-14,35%
12	11,02	9,48	11,09	10,53 (8,64)	-12,25%
15	13,35	11,92	11,39	12,22 (8,29)	-18,53%
20	18,14	14,92	12,77	15,28 (17,70)	-23,61%
25	14,73	14,41	14,50	14,55 (1,13)	-41,81%
30	14,73	14,70	15,50	14,98 (3,02)	-50,07%

Une image microscopique (grossissement 10x10) d'un des précipités est présentée Figure 22.

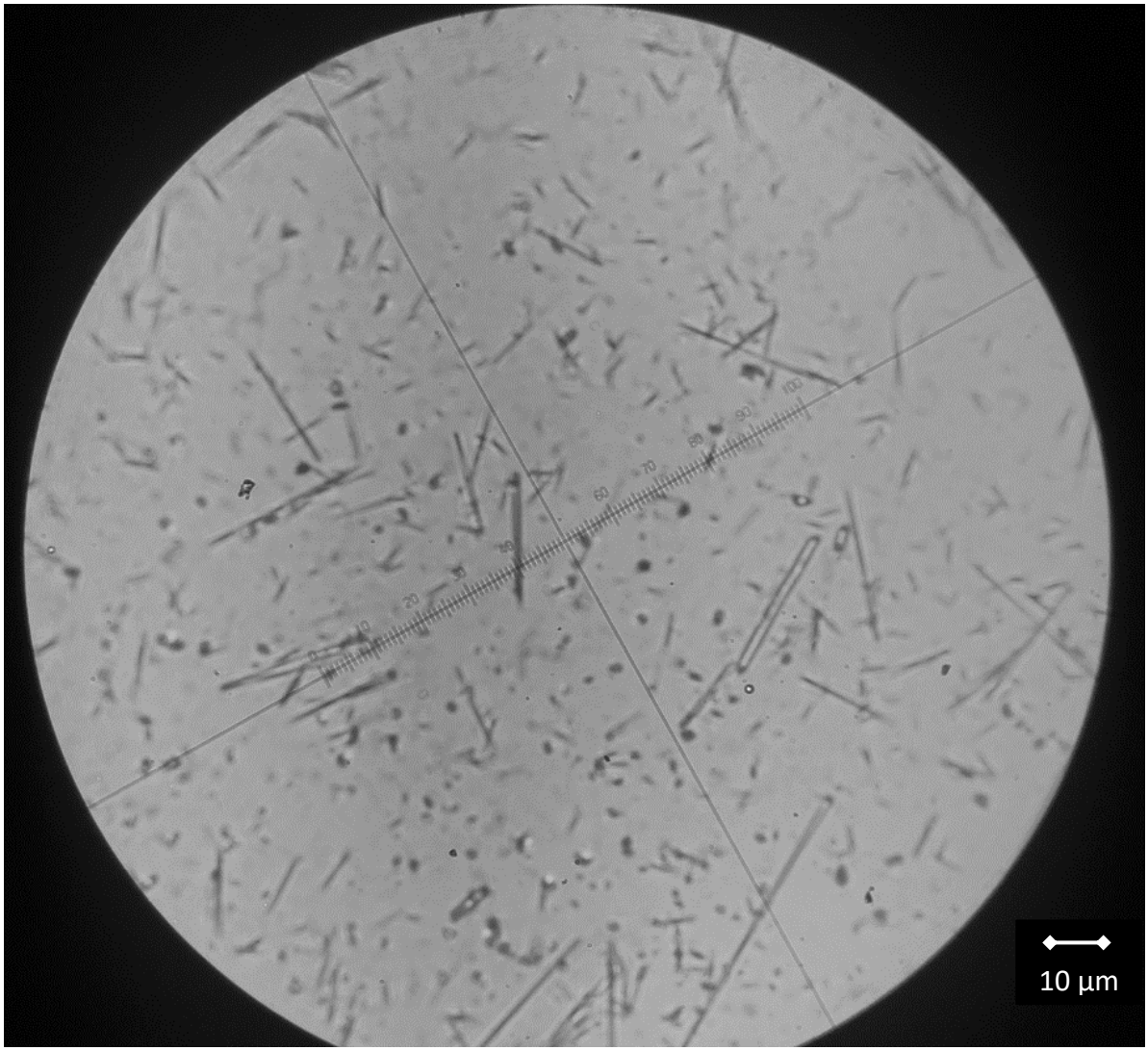


Figure 22 : imagerie de cristaux d'amoxicilline au microscope optique (10x10).

Il est observé un phénomène de cristallisation de l'amoxicilline, macroscopique et microscopique. Ce phénomène est lent, concentration dépendant, température dépendante et pH dépendant. Ces résultats sont cependant insuffisants pour établir avec certitude une concentration super-saturante. Néanmoins, la concentration cible (12 mg/mL) n'est pas adaptée à une réfrigération à pH = 6,5.

Même si le phénomène semble apparaitre pour des températures inférieures à 25 °C, il n'est pas impossible qu'en conditions réelles d'utilisation le diffuseur soit exposé à des températures comprises entre 5 °C et 25 °C, voir moins. Dans ce cas, des cristaux d'amoxicilline se formeraient

et, dans le meilleur des cas, iraient boucher le filtre du dispositif médical utilisé, dans le pire des cas, provoqueraient une embolie chez le patient.

Pour prévenir ce phénomène, deux approches sont étudiées : augmenter la solubilisation et inhiber la cristallisation de l'amoxicilline. Les résultats sont présentés Tableau 19.

Tableau 19 : résultat des essais de solubilisation et inhibition de la cristallisation de l'amoxicilline en solution (20 mg/mL) à pH 6,5 et 7,2.

Mécanisme	Excipient	Résultat à pH 6,5	Résultat à pH 7,2
Solubilisant	Glycerol (1 M)	Non conforme	Non conforme
	Polyethylèneglycol (5 %)	Non conforme	Non conforme
	Povidone (5 %)	Non conforme	Non conforme
	Copovidone (5 %)	Non conforme	Non conforme
	Polysorbate 80 (5 %)	Non conforme	Non conforme
	Cyclodextrine β (1 %)	Non conforme	Non conforme
Inhibiteur de cristallisation	Citrate sodique 0,1 %	Non conforme	Non conforme
	Magnésium (1 M)	Non conforme	Non conforme

Aucune solution expérimentée ici ne semble apporter de solution satisfaisante. La méthodologie appliquée pourrait cependant être élargie. En effet, le mécanisme de cristallisation microscopique doit être exploré précisément pour comprendre les phénomènes induisant la nucléation primaire. La cristallisation est-elle induite par la sursaturation en amoxicilline, ou par une impureté amenée lors de la dilution ? De plus, ces essais pourraient être réalisés à d'autres pH et d'autres concentrations en amoxicilline et en excipient.

3.7.4 Discussion et conclusion

L'objectif de cette 4e étape est décrire la cristallisation de l'amoxicilline puis de trouver une méthodologie pour prévenir ce phénomène.

Une cristallisation de l'amoxicilline a été mise en évidence et décrite. Celle-ci est lente, pH et température dépendante, entraine une cristallisation microscopique qui semble de forme aciculaire. Cette cristallisation est observée pour un pH inférieur à 7,2. À ce pH, la forme majoritaire de l'amoxicilline est la forme zwitterion, comme présenté en Figure 23.

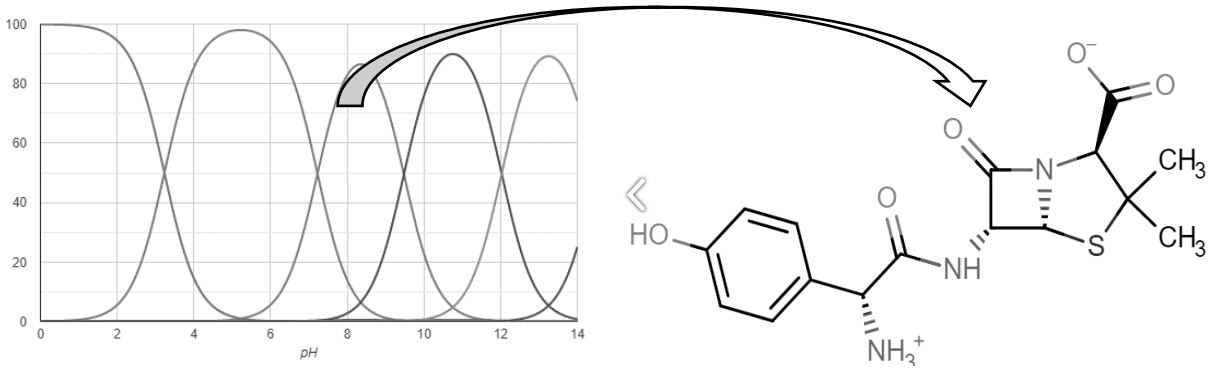


Figure 23 : répartition des formes de l'amoxicilline en fonction du pH et représentation de sa forme zwitterion.

Les pH limites (acides ou basiques) n'ont pas été explorés car ils ne permettent pas une administration de la molécule par voie intraveineuse au long cours. Si la méthodologie ne permet pas de mesurer les concentrations de saturation en solution avec certitude, les données générées sont suffisantes pour affirmer qu'en l'état, la formulation dans ces conditions de pH ne peut être administrée. La recherche d'une méthodologie de solubilisation est ensuite réalisée.

Cette méthodologie a été réalisée sous forme de screening. L'objectif était de trouver un solubilisant ou un inhibiteur de cristallisation qui puisse être appliqué même dans des conditions critiques d'utilisation de la formulation : concentration élevée et température faible. Les modalités d'administration du médicament : forme intra-veineuse, volume important (500 mL ou 1 L par jour) ne permettent pas l'utilisation de tous les excipients potentiellement intéressants. C'est le cas par exemple de l'éthanol.

Par conséquent, nous n'avons pas prospecté plus avant dans cette voie. À partir des résultats présentés précédemment, une formulation a été choisie.

3.8 Choix de la formulation

La prise en charge des IOA peut nécessiter l'instauration d'une APA. Dans ce cas, une antibiothérapie par amoxicilline intraveineuse à forte dose en perfusion continue peut-être réalisée pendant 6 semaines.

Le protocole de prise en charge proposé par le (CRIOAC) est l'instauration d'amoxicilline à forte dose, 200 mg/kg/jour en perfusion continue. Cette antibiothérapie est reconstituée et administrée quotidiennement par un(e) infirmier(e) au domicile du patient.

Comme démontré précédemment, la formulation actuelle présente une stabilité insuffisante. La formulation, reconstituée et administrée pendant 24 heures, atteint le seuil de stabilité recommandé par l'USP en 4 à 6 heures environ. Le patient se voit recevoir l'antibiotique à dose insuffisante, ainsi qu'une quantité de produits de dégradation dont l'impact clinique n'est pas évalué.

Nous avons mis en évidence la possibilité d'obtenir une stabilité d'environ 30 heures en simplement diluant la préparation. Nous n'avons pas réussi à stabiliser la formulation au-delà de cette limite du fait de problèmes de cristallisation.

La formulation proposée aux cliniciens est un kit contenant :

- ✓ 3 flacons d'amoxicilline 2 G
- ✓ Un Autofuseur® Ace Medical 12 heures pré-rempli par 500 mL de NaCl 0,9 %.

Les autofuseurs sont pré-remplis sous atmosphère contrôlée pour diminuer le risque infectieux via un système automatisé (pompe BAXA®) pour minimiser la pénibilité de cette opération.

Cette formulation fera l'objet d'une étude pharmacocinétique (PK/PD) de phase II. Ce projet est porté par le CIC d'infectiologie du Groupement Hospitalier Nord des Hospices Civils de Lyon, en lien avec le CRIOAC.

Une étude de stabilité en conditionnement final selon le procédé retenu est en cours de réalisation. La méthodologie et les résultats seront soumis à l'ANSM pour autorisation de l'essai clinique.

4. Discussion et conclusion

Au cours de ce second chapitre, une méthodologie permettant la prédiction totale de la stabilité chimique d'un PA a été introduite. Cette méthode consistait à calculer les constantes cinétiques de réaction des molécules en utilisant les équations de chimie quantique simplifiées. Plusieurs logiciels assurent la réalisation de ces calculs. De nombreux exemples dans la littérature appliquent les méthodes *ab initio* notamment de DFT pour décrire et caractériser les mécanismes réactionnels sur des petites molécules du champ pharmaceutique [41] [51] [52].

Cette méthode est décomposée en cinq temps : (i) simulation des voies de dégradation chimique d'une molécule, (ii) recherche des voies de dégradation favorables, (iii) recherche des intermédiaires réactionnels et des états de transitions favorables, (iv) calcul des énergies d'activation pour atteindre ces intermédiaires et enfin (v) calcul des constantes cinétiques.

L'application de cette méthodologie a été réalisée en partenariat avec le laboratoire du Pôle Rhône Alpes de Bio-Informatique de Lyon Gerland. Le laboratoire apportait à ce projet son expertise dans la manipulation de ces méthodes et l'équipement informatique nécessaire.

Malgré cela, l'étude a été interrompue après quelques mois. En effet, la méthodologie prédictive totale nécessite un temps de calcul trop conséquent. Le travail a été testé sur la première voie de dégradation de l'amoxicilline : modélisation, représentation, recherche des intermédiaires réactionnels et des produits de transition. Après 3 semaines de calcul sur le calculateur du laboratoire, les constantes d'équilibres n'étaient pas obtenues. La méthodologie, dans l'objectif d'utilisation en PUI comme outil d'aide au développement pharmaceutique des formulations hospitalières ou des essais cliniques n'est pas adaptée.

Malgré cela, le problème de ressource informatique pourrait être contourné de deux manières. Tout d'abord, au lieu de représenter l'intégralité de la molécule, il faudrait travailler sur un fragment d'intérêt. Le cycle β-lactame par exemple pourrait être isolé, les calculs réalisés uniquement sur un petit groupe d'atomes. Cela permettrait de diminuer le besoin en ressource. La contrepartie serait une perte de précision des calculs. La différence serait à évaluer. La

seconde manière serait de reprendre cette étude dans 10 ans. La vitesse exponentielle d'évolution des outils technologiques informatiques pourrait laisser envisager cette possibilité.

Si cette approche n'a pas été satisfaisante, il semblait incontournable de l'exposer au cours de ce travail de recherche sur la prédiction de la stabilité des médicaments.

La seconde partie de ce chapitre a été consacrée à l'étude prospective de la stabilité d'une formulation d'amoxicilline injectable. L'objectif initial était d'utiliser la méthode prédictive totale pour trouver un environnement favorable à la stabilité du principe actif. La modélisation des cinétiques de dégradation selon la température et le pH aurait pu éviter la réalisation des essais de pré formulation présentés dans ce chapitre. Cette modélisation n'ayant pu aboutir, les principales étapes de pré formulation ont été présentées.

Tout d'abord une méthode de dosage HPLC-UV indicatrice de stabilité a été implémentée. Les stratégies de développement et de validation de méthode ont été celles du GERPAC et de la SFSTP. Ces méthodes présentent l'avantage d'être complètes et simple à utiliser. De plus, le profil d'exactitude est un outil visuel élégant pour présenter les résultats d'une validation.

Ensuite, un état des lieux de la stabilité de la molécule selon le protocole d'utilisation actuel a été réalisé (amoxicilline injectable 50 mg/mL de NaCl 0,9 % pendant 24 heures en diffuseur Folfuser® de Baxter). Après les 24 heures à température ambiante, 22 % de la substance active était dégradée. Ce protocole n'est pas conforme aux recommandations des pharmacopées et encore moins de la CIH. Le seuil d'acceptation de dégradation de produit de l'USP est de 10 %, tandis qu'il est proposé à 5 % selon la CIH. Un développement de formulation était nécessaire.

Pour cela, un conditionnement permettant la dilution suffisante de la solution a été sélectionné. Cette dilution permet au mélange de présenter une stabilité améliorée, comme décrit dans la littérature. Ensuite, un pH permettant de diminuer la pression des ions OH^- et H^+ sur le noyau β-lactame a été recherché. En parallèle, a été réalisée une caractérisation empirique et macroscopique des causes de cristallisation de la solution d'amoxicilline en fonction du pH et de la température, à la recherche d'un inhibiteur de cristallisation.

Ainsi, une formulation a été développée : amoxicilline 12 mg/mL de NaCl 0,9 % dans des diffuseurs Autofuseurs® de 500 mL de débit 42 mL/heure. Le développement de cette formulation s'est avéré être un compromis entre stabilité et solubilité de l'antibiotique. Elle permet une durée de conservation d'environ 30 heures à température ambiante. L'administration doit être réalisée deux fois par jour pour atteindre la dose de 200 mg/kg/j recommandée.

Par la suite, cette formulation sera étudiée sur l'homme lors d'un essai clinique de Phase II. Au cours de cet essai, une mesure des concentrations PK/PD sera réalisée. La dose pharmacocinétique reçue par le patient sera modélisée en fonction de la dégradation du médicament grâce à une méthodologie présentée ci-après.

En effet, au cours de la partie III de ce travail de thèse, nous présenterons la possibilité de modéliser mathématiquement la cinétique de dégradation d'une molécule en fonction de la température et de l'humidité environnante. Selon cette méthodologie, nous étudierons la dégradation de l'amoxicilline dans notre formulation. À partir des données, nous construirons le modèle mathématique prédictif de cette dégradation, en fonction de la température.

Lors de l'administration du médicament au cours de l'essai clinique, la température des solutions injectables sera monitorée via une sonde transportée par le patient. Avec cette donnée de température, la concentration en amoxicilline injectée sera calculée. Cette concentration sera précisément utilisée dans les modèles de pharmacocinétiques.

Ainsi, le chapitre III présentera les méthodes semi-prédictives de la stabilité des médicaments.

CHAPITRE III

MÉTHODES SEMI-PRÉDICTIVES : PRINCIPES ET APPLICATIONS

1. Introduction
2. Approche semi-prédictive : Étude Semi-Prédictive Accélérée (ESPA)
3. Mesure, analyse et prédiction de la stabilité d'une forme orale d'amoxicilline par approche prédictive accélérée et descripteurs moléculaires intégrés
4. Les préparations hospitalières de recours nécessitent une prédiction rapide de leur stabilité : application à la fabrication d'une formulation de prednisone orale.
5. Discussion et conclusion

1. Introduction

Le chapitre précédent présente une approche prédictive totale de l'étude de la stabilité chimique d'une substance active, ses avantages et inconvénients, et la corrélation ou tentative de corrélation a un jeu de données expérimentales dans le cadre d'un développement d'une formulation injectable. Une approche prédictive totale peut être complexe à appliquer à certains médicaments, notamment les macromolécules, du fait de la consommation importante en ressource informatique. De plus, l'approche prédictive totale nécessite l'utilisation d'équipements informatiques sophistiqués et des calculs chronophages qui ne peuvent remplacer encore l'analyse prospective des stabilités.

Une seconde approche de type semi-prédictive a été introduite ces dernières années par Waterman et améliorée par Clancy : l'Accelerated Predictive Stability (APS) devenu ensuite Accelerated Stability Assessment Program (ASAP) [53] [32] [54] [33]. Malgré toute la reconnaissance quant à la créativité et l'intelligence de ceux qui ont théorisé et conçu cette méthode, l'auteur de ce manuscrit est attaché à traduire systématiquement tout anglicisme. Il considère de plus que l'utilisation de la dénomination originale, tout aussi smart qu'elle soit, serait une solution de facilité et témoignerait d'une créativité lacunaire de celui-ci. Alors, la dénomination proposée est : Étude Semi-Prédictive Accélérée (ESPA).

L'ESPA présentée au cours de ce chapitre, est une méthode permettant, à partir de quelques points expérimentaux générés, de modéliser et de prédire la stabilité d'une formulation au long cours et dans plusieurs conditions environnementales. Elle s'appuie sur les principes théoriques présentés au cours du chapitre I. La méthodologie sera présentée au cours de ce chapitre et sera appliquée à la prédiction de la stabilité de deux formulations développées dans notre PUI : gélules d'amoxicilline 5 mg et gélules de prednisone 1 et 5 mg.

2. Approche semi-prédictive : Étude Semi-Prédictive Accélérée (ESPA)

2.1 Principe

Le principe de l'ESPA est de générer un modèle mathématique décrivant l'évolution d'un attribut critique de qualité (ACQ) d'une formulation en fonction des conditions environnementales. Le modèle généré est ensuite extrapolé pour prédire l'évolution de cet ACQ dans le temps et selon les conditions de conservation. Cette méthode semi-prédictive permet d'obtenir rapidement des données extrapolables sur une longue durée.

L'ESPA est mise en place en quatre étapes. Après avoir choisi le ou les attributs critiques de qualité pertinents, la première étape consiste à faire subir au médicament différentes conditions de stress. Ces conditions de stress vont induire les différents mécanismes de dégradation. Les conditions appliquées doivent être suffisamment agressives pour induire la dégradation, mais suffisamment mesurée, afin de ne pas activer de voies secondaires non pertinentes. La seconde étape consiste à mesurer, à des temps définis, les attributs critiques de qualité retenus. Les temps choisis pour chaque condition environnementale doivent être définis à travers un design d'étude cohérent. Au cours de la troisième étape, les données générées précédemment sont injectées dans les différents modèles mathématiques décrits dans la littérature. La corrélation entre les données expérimentales et les résultats générés va permettre de choisir le meilleur modèle. Celui-ci sera exploité pour extrapoler les données et prédire une durée de conformité prédictive de l'attribut critique de qualité suivi, constituant la quatrième et dernière étape de la mise en place de l'ESPA.

L'ESPA permet une évaluation rapide de la stabilité d'une formulation pharmaceutique. Néanmoins, pour s'assurer d'une bonne fiabilité de la prédiction, le design d'étude doit être construit de manière cohérente en regard des objectifs de l'étude.

2.2 Design d'étude

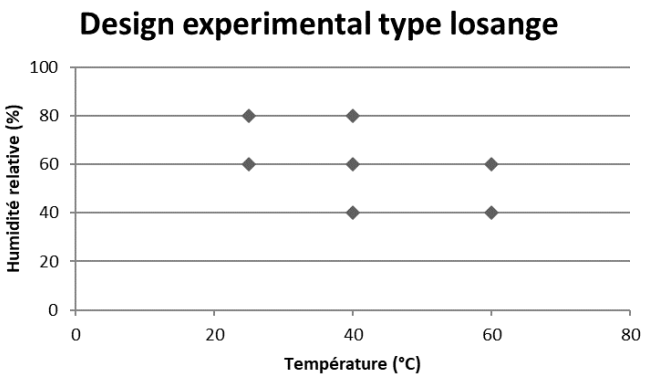
Le design expérimental de l'étude doit permettre d'obtenir des données pertinentes et de pouvoir générer le modèle mathématique le mieux corrélé. L'étude doit évaluer toutes les contraintes environnementales subies par le médicament afin de mesurer et de dissocier l'impact de chacune.

Les contraintes environnementales à appliquer dépendent de la forme pharmaceutique. Seules celles qui ont un impact sur la stabilité du médicament sont suivies. Ces contraintes présentées au cours du chapitre I sont : température et humidité. Les formes solides et semi-solides sont sensibles à l'humidité tandis que les formes liquides sont sensibles à la température. Parfois, un principe actif peut présenter une sensibilité à l'oxygène ou à la lumière. Alors, une bonne connaissance des voies de dégradation de la substance active, bibliographique et expérimentale, permet de choisir un conditionnement secondaire adapté. Oxygène et lumière ne sont donc pas pertinents à étudier lors de cette étude. Les contraintes expérimentales pertinentes à appliquer sont la température et l'humidité relative.

La partie Q1A(R2) [44] des recommandations de la CIH propose de conserver les produits dans différents environnements, selon les conditions de conservations préconisées : -20 ± 5° C; 5 ± 3° C ; 25 ± 2°C 60 ± 5 % HR; 30 ± 2 °C 65 ± 5 % HR; 40 ± 2 °C 75 ± 5 % HR. Ces conditions de conservation apportent des informations prospectives sur la conservation des médicaments à travers le monde, dans différentes conditions climatiques. Cependant, la recherche d'un modèle mathématique doit évaluer (i) chacun des paramètres indépendants à plusieurs niveaux de valeurs, et (ii) l'impact d'une potentialisation de ces facteurs. Par conséquent, Clancy et Al. [33] proposent une dissociation des facteurs étudiés par mise en place d'un plan expérimental en losange, comme présenté Tableau 20.

Tableau 20 : plan d'expérience en losange

Température (° C)	Humidité Relative (%)
25	60
25	80
40	40
40	60
40	80
60	40
60	60



Le plan expérimental en losange permet d'évaluer de manière indépendante et synergique chacun des paramètres clés ayant un impact dans la stabilité du produit fini. Une fois celui-ci établi, il convient de définir les temps de suivi de l'attribut critique de qualité étudié.

L'objectif de cette méthode est d'obtenir une équation cinétique permettant de prédire l'évolution des attributs critiques de qualité (ACQ) dans le temps. Le choix des temps d'analyse doit être adapté à l'évolution de ces ACQ dans les conditions de dégradation forcée choisies. Une dégradation trop importante ne serait pas pertinente, car elle pourrait induire des voies de dégradation secondaires. Une dégradation trop faible ne permettrait pas de générer un modèle pertinent. Il faut adapter les temps d'analyse au médicament à la substance active et aux attendus bibliographiques concernant les ACQ.

Le choix des temps d'analyse pourra au besoin être revu en cas d'évolution trop ou pas assez importante des ACQ. Une fois les analyses réalisées aux temps définis, les données générées sont insérées dans les différents modèles proposés par la littérature pour les évaluer.

2.3 Choix du modèle

L'impact des contraintes environnementales sur l'évolution des attributs critiques de qualité a été évalué. Il permet une recherche de corrélation des données avec les différents modèles cinétiques proposés dans la littérature. Nous présenterons tout d'abord les modèles et leur construction, puis nous proposerons une méthode permettant le choix de l'équation la mieux corrélée.

2.3.1 Les modèles cinétiques

Les modèles cinétiques utilisés dans les ESPA sont décrits dans la littérature et présentés dans le chapitre I. Ils sont construits avec trois composantes : (i) l'équation fondamentale d'Arrhenius représentant la température, (ii) le paramètre d'humidité qui modélise l'action de l'eau sous forme d'humidité environnementale, et (iii) le paramètre de réaction, en fonction du type de mécanisme physique ou chimique lors de la dégradation.

L'équation éq. 100 est la loi d'Arrhenius, dans laquelle la constante cinétique (k) est fonction de la température T (en Kelvin), de l'énergie d'activation de la réaction E_a, de la constante des gaz parfaits R, ainsi que du facteur pré-exponentiel dit de collision A.

$$k_T = A.e^{\frac{-E_a}{R.T}} \qquad \text{Eq. 100}$$

Cependant, pour les formes solides, cette équation n'est applicable que pour une humidité relative (HR) fixée : $k_{T,\,HR}$ est associée à A_{HR}. La constante cinétique k est donc fonction du temps (t) et de l'humidité relative (HR). S'il n'y avait jusqu'à récemment pas d'analogue d'humidité universellement accepté, plusieurs modèles proposent maintenant d'intégrer l'humidité dans l'équation d'Arrhenius.

Lorsque k augmente exponentiellement avec l'humidité relative, le modèle cinétique peut s'écrire selon l'équation éq. 101 dans laquelle H est le paramètre d'humidité relative et B le facteur d'humidité [32] [53]. C'est l'équation de Waterman.

$$k_{T,H} = A.e^{\frac{-E_a}{R.T}}.e^{B.H} \qquad \text{Eq. 101}$$

Lorsque k augmente avec l'humidité « portée en puissance », le modèle cinétique peut s'écrire l'équation éq. 102 dans laquelle H est l'expression de l'humidité (Humidité Relative, Humidité Absolue ou Pression de Vapeur) et N_1 est le facteur d'humidité [33]. C'est l'équation de Clancy.

$$k_{T,H} = A.e^{\frac{-E_a}{R.T}}.H^{N_1}$$ Eq. 102

La constante cinétique k peut donc varier selon la température et l'humidité, comme décrit dans les équations éq. 101 et éq. 102. Ainsi modélisé, $k_{T,H}$ sera exploité dans l'équation éq. 103, équation cinétique générale pour chaque type de réaction introduite lors du chapitre I et présentée ci-après :

$$g(\alpha) = k_{T,H} \cdot t$$ Eq. 103

Les modèles décrits dans le chapitre I sont rappelés dans le Tableau 21.

Tableau 21: modélisation mathématique des phénomènes réactionnels en fonction de $\frac{d(\alpha)}{d(t)}$, $k_{T,H}$ et t, et de g(α) la forme intégrale de $\frac{d(\alpha)}{d(t)}$ pour un t compris entre 0 et +∞.

Modèle cinétique	**Forme différentielle ($\frac{d(\alpha)}{d(t)}$ =)**	**Forme intégrale (g(α) = kt)**
Modèles de réaction basés sur les ordres		
Ordre 0	k	α
Ordre 1	$k.(1-\alpha)^1$	$-\ln(1-\alpha)$
Ordre 2	$k.(1-\alpha)^2$	$[(1-\alpha)^{-1}-1]$
Ordre 3	$k.(1-\alpha)^3$	$[(1-\alpha)^{-2}-1]0.5$
Modèles de réaction de type nucléation		
Réaction en puissance (d'ordre « n »)	$k.n(\alpha)^{\frac{(n-1)}{n}}$	$(\alpha)^{\frac{1}{n}}$
Nucléation (Avrami-Erofeyev)	$k.n(1-\alpha)[-\ln(1-\alpha)]^{\frac{(n-1)}{n}}$	$([-\ln(1-\alpha)]^{1/n})$
Auto-catalyse (Prout-Tompkins)	$k.\alpha(1-\alpha)$	$\ln(\frac{\alpha}{1-\alpha})$
Modèles de réaction de type diffusion		
Diffusion sur 1 dimension	$k.\frac{1}{2\alpha}$	α^2
Diffusion sur 2 dimensions	$k.[-\ln(1-\alpha)]^{-1}$	$\{((1-\alpha)\ln(1-\alpha)) + \alpha\}$
Diffusion sur 3 dimensions (Jander)	$k.\frac{3(1-\alpha)^{2/3}}{2[1-(1-\alpha)^{1/3}]}$	$[1-(1-\alpha)^{1/3}]^2$
Diffusion sur 3 dimensions (Ginstling-Brounshtein)	$k.\frac{3}{2[-1+(1-\alpha)^{-1/3}]}$	$1-\frac{2\alpha}{3}-(1-\alpha)^{\frac{2}{3}}$
Modèles de réaction de type contraction		
Contraction de surface (n = 2) ou contraction de volume (n = 3)	$k.n(1-\alpha)^{\frac{(n-1)}{n}}$	$1-(1-\alpha)^{\frac{1}{n}}$

Ainsi, les profils de dégradations résultants de ces différents mécanismes sont présentés Figure 24.

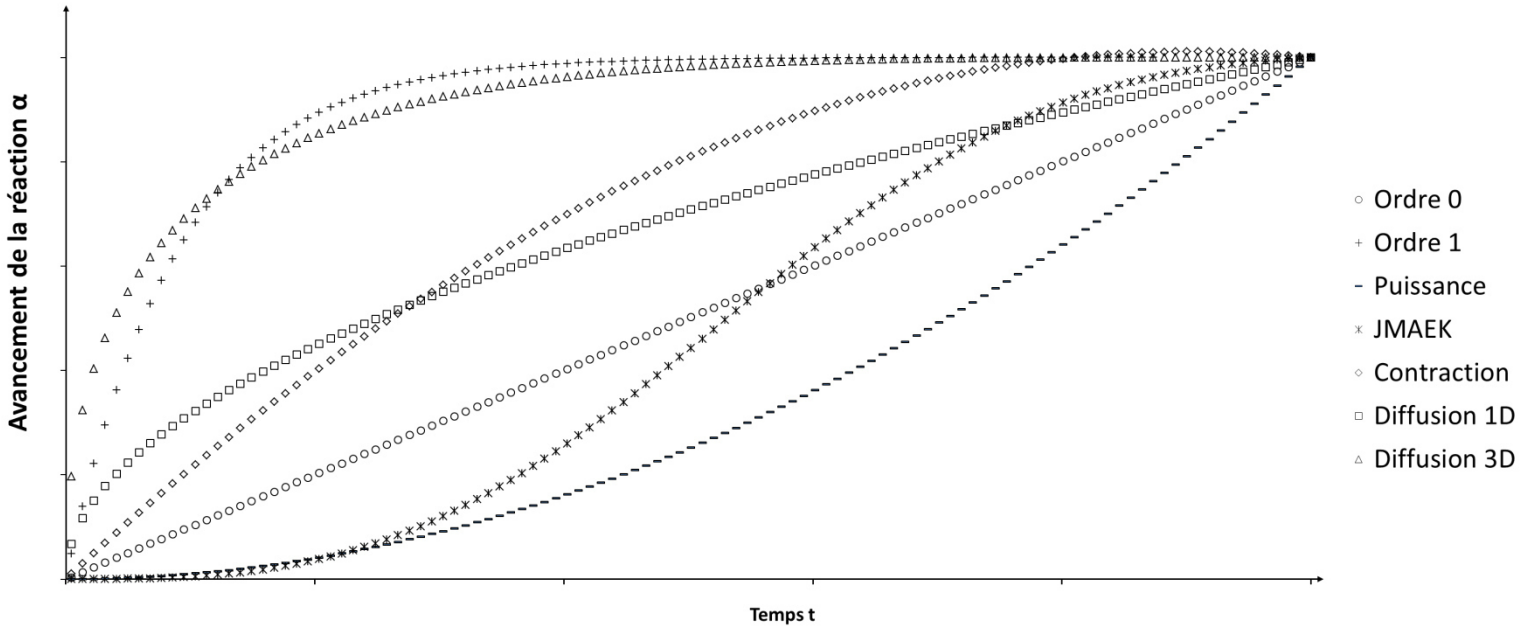


Figure 24 : profils des courbes d'avancement de la dégradation alfa en fonction du temps pour les principaux modèles : Ordre 0, Ordre 1, Nucléation en puissance, Modèle JMAEK (Avrami-Erofeyev), Contraction, Diffusion 1D et 3D, d'après Scrivens, Clancy et Gerst : « Theory and fundamentals of accelerated predictive stability studies », Elsevier 2018. [59].

L'approche de Clancy et Al. pour modéliser aisément ces profils de dégradation est d'approximer en « lissant » les courbes avec un paramètre de forme. Ainsi, Clancy propose l'introduction d'un paramètre N_2 de forme. L'équation type éq. 103 s'exprimerait selon éq. 104 :

$$g(\alpha) = k_{T,H} \cdot t^{N_2} \qquad \text{Eq. 104}$$

Avec N_2 : paramètre dit « de forme », « shape parameter ». Ainsi, les profils de dégradation obtenus avec cette approximation permettent de construire les courbes présentées Figure 25.

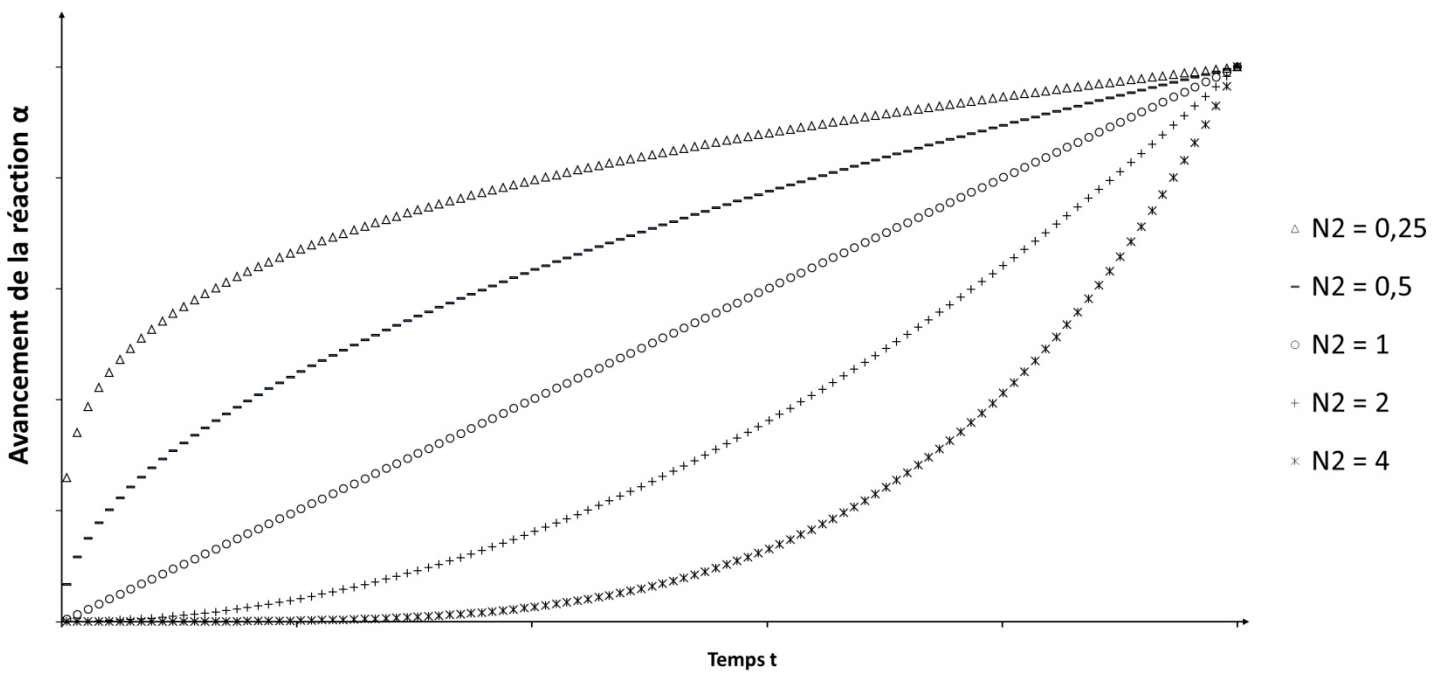


Figure 25 : courbes obtenues après lissage du paramètre de temps par un exposant N_2 comme présenté équation éq. 104, d'après Scrivens, Clancy et Gerst : « Theory and fundamentals of accelerated predictive stability studies », Elsevier 2018. [59].

Ainsi, avec le paramètre de forme N_2, La représentation mathématique de l'avancement des réactions s'exprime selon les équations éq. 105 et éq. 106 :

$$\alpha(t) = A.e^{\frac{-E_a}{R.T}}.e^{B.H}.t^{N_2} \qquad \text{Eq. 105}$$

$$\alpha(t) = A.e^{\frac{-E_a}{R.T}}.H^{N1}.t^{N_2} \qquad \text{Eq. 106}$$

Clancy et Al. proposent alors quatre représentations mathématiques simplifiées modélisant la majorité des phénomènes cinétiques introduits au chapitre I. Ces représentations sont présentées au Tableau 22.

Tableau 22 représentations mathématiques simplifiées des principaux modèles cinétiques et correspondances. K1, K2, K3, N_1, N_2 : constantes, t : temps, H : paramètre d'humidité, α(t) : avancement de la réaction.

Modèles cinétiques	**Formules**
Représentation linéaire $N_2 = 1$ Réaction d'ordre « 0 »	$\alpha(t) = \alpha(0) + K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).\exp(H.N_1).t$ $\alpha(t) = \alpha(0) + K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).H^{N_1}.t$
Représentation lissée $N_2 > 1$ Nucléation : Loi de Puissance, JMAEK, Auto-catalyse de Prout-Tompkins $N_2 < 1$ Réaction de diffusion 1D	$\alpha(t) = \alpha(0) + K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).\exp(H.N_1).t^{N_2}$ $\alpha(t) = \alpha(0) + K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).H^{N_1}.t^{N_2}$
Représentation accélérée Nucléations : Loi de Puissance, JMAEK, Auto- catalyse Prout-Tompkins	$\alpha(t) = \alpha(0).\exp\left(K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).\exp(H.N_1).t\right)$ $\alpha(t) = \alpha(0).\exp\left(K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).H^{N_1}.t\right)$
Représentation décélérée Réactions d'ordre >0, diffusion 3D	$\alpha(t) = \alpha(0) + K3.(1 - \exp(-K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).\exp(H.N_1).t))$ $\alpha(t) = \alpha(0) + K3.(1 - \exp(-K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).H^{N_1}.t))$

Ces différentes équations permettent une modélisation d'une très grande partie des phénomènes cinétiques de dégradation en phase homogène et hétérogène. Les données générées par l'expérimentation vont permettre de fixer les constantes (K1, K2, K3, N1 et N2). Ces paramètres connus, l'évaluation statistique de corrélation des modèles est ensuite réalisée.

2.3.2 Choisir le meilleur modèle.

Connaissant les différentes équations cinétiques permettant de décrire l'évolution de l'ACQ retenu, une évaluation du meilleur modèle doit être réalisée. Pour cela, chaque modèle est testé, avec les données expérimentales générées. La corrélation va être étudiée à travers trois paramètres statistiques : l'Erreur Quadratique Moyenne (EQM), le Critère d'Information d'Akaike (CIA) et le CIB (Critère d'Information Bayésien).

L'erreur quadratique moyenne (EQM ou RMSE pour « Root Mean Square Error ») permet l'évaluation de la corrélation d'un modèle mathématique à une série de données. Son expression est donnée en équation éq. 107.

$$EQM = \sqrt{\frac{\sum(Valeur\ observée - valeur\ attendue)^2}{Nombre\ de\ valeurs}} \qquad \text{Eq. 107}$$

L'EQM permet de rendre compte de la somme du carré des erreurs du modèle. Plus l'EQM est faible, meilleure est la corrélation du modèle.

Le critère d'information d'Akaike (CIA ou AIC pour Akaike Information Criterion) permet l'évaluation de la qualité d'un modèle statistique selon le nombre de paramètres. Il pénalise les modèles pour chaque paramètre supplémentaire. L'AIC permet un compromis entre (i) le biais diminuant avec le nombre de paramètres, et (ii) la parcimonie, la volonté de décrire les données avec le plus petit nombre de paramètres possible. Son expression est donnée selon l'équation éq. 108 où $\tilde{L}$ est la vraisemblance, et k le nombre de paramètres du modèle.

$$CIA = -2Log\tilde{L} + 2k \qquad \text{Eq. 108}$$

Le critère d'information bayésien (CIB, ou BIC pour « Bayesian Information Criterion ») est une mesure de la qualité d'un modèle statistique dépendant du nombre de paramètres et de la taille de l'échantillon. Son expression est donnée en équation éq. 109, où $\tilde{L}$ est la vraisemblance, k le nombre de paramètres du modèle et n le nombre d'observations :

$$CIB = -2Log\tilde{L} + klog(n) \qquad \text{Eq. 109}$$

Les CIA et CIB apportent une information supplémentaire quant à la qualité du modèle, au nombre de paramètres statistiques évalués et à la taille de l'échantillon. Le meilleur modèle sera celui qui présentera les CIA et CIB les plus faibles. Le CIA permet de retenir les variables pertinentes, tandis que le CIB vise la sélection de variables statistiquement significatives dans le modèle.

Le modèle ayant la meilleure corrélation avec les variables générées sera donc le modèle présentant (i) le plus petit EQM, (ii) le plus faible CIA et (iii) le plus faible CIB. Ce modèle sera utilisé pour l'extrapolation des données.

2.4 Extrapolation

À ce stade, pour modéliser l'évolution d'un ACQ sélectionné pour un médicament, nous avons mis en place un plan expérimental d'étude accélérée de son évolution, appliqué ce plan expérimental, et généré le meilleur modèle mathématique l'expliquant. Ce modèle, produit en quelques jours à quelques semaines, est utilisé pour extrapoler l'évolution de l'attribut de qualité critique du médicament à l'étude.

Le modèle le mieux corrélé va être construit en insérant les paramètres calculés grâce aux données expérimentales. Ce modèle est utilisé pour extrapoler l'évolution de l'attribut critique de qualité étudié. L'extrapolation se fait dans les conditions environnementales CIH spécifiées : zones climatiques I et II, ou III et IV.

Chaque paramètre du modèle est caractérisé par une valeur calculée et un intervalle de confiance. L'extrapolation prend en compte la valeur calculée de chaque paramètre mais également les valeurs minimales et maximales données par l'intervalle de confiance. Cela permet de construire l'intervalle de confiance de l'ACQ.

Pour l'ACQ choisi, une spécification a été préalablement fixée. Lorsqu'une borne de l'intervalle de confiance de l'ACQ atteint la spécification fixée, la durée de stabilité peut être considérée comme atteinte. Cela permet d'analyser l'attribut selon le « pire des cas ».

L'évolution de l'attribut critique de qualité est étudiée en quelques jours à quelques semaines via cette approche semi-prédictive. Une réponse quant à la stabilité du produit fini peut dès lors être apportée dans des délais courts. En cas de problème lié à la formulation, des mesures correctives sont apportées très rapidement. De plus, une durée de stabilité pourra être envisagée pour la préparation pharmaceutique à l'étude. Néanmoins, il semble nécessaire de continuer l'évaluation prospective de la stabilité du produit fini dans l'environnement

préconisé. Cette méthodologie est implémentée dans notre unité, pour prédire la stabilité de trois formulations développées : gélules d'amoxicilline 5 mg et des gélules de prednisone de 1 et 5 mg.

3. Mesure, analyse et prédiction de la stabilité d'une forme orale d'amoxicilline par approche prédictive accélérée et descripteurs moléculaires intégrés

3.1 Contexte général et objectif spécifique de la publication

La structure moléculaire, cristalline ou amorphe, d'un principe actif (PA) est caractérisée par des descripteurs intramoléculaires et des propriétés physiques et chimiques. Ces propriétés impactent la nature des interactions entre la molécule et son environnement direct. Mélangés avec un ou plusieurs excipients, les constituants d'un mélange forment un réseau complexe d'interactions et d'influences. Ces propriétés et interactions impactent à leur tour la stabilité d'un mélange solide-solide. En parallèle, la sorption d'humidité par les PA et excipients constituants le mélange a un effet physique sur la structure moléculaire microscopique ainsi qu'un effet chimique par hydrolyse des constituants. La stabilité d'une molécule est également dépendante des contraintes environnementales appliquées. La prédiction totale de la stabilité d'un PA ou d'un médicament en est rendue difficile.

La prédiction de la stabilité d'un PA pourrait être facilitée si l'un des descripteurs intramoléculaire, physique ou chimique pertinent était identifié et son impact sur la stabilité décrit, quantifié et modélisé. La recherche de descripteurs et propriétés ayant un impact quantifiable sur une cinétique de dégradation chimique permettrait une meilleure prévision des stabilités moléculaires. Cette recherche de descripteurs est l'un des objectifs des deux travaux proposés au cours de ce chapitre.

Le premier article présente une comparaison de la stabilité de deux formulations quasiment similaires par étude de stabilité accélérée. Dans cette première publication, la stabilité de deux formes physiques d'une même molécule a été comparée : l'amoxicilline sodique (AS) et l'amoxicilline trihydratée (ATH). La comparaison a porté sur :

- ✓ la nature des descripteurs moléculaires intrinsèques des deux formes,
- ✓ la nature des propriétés physiques et chimiques des deux formes,
- ✓ les interactions entre chaque forme et l'environnement direct (excipients),
- ✓ l'évolution temporelle des concentrations et des interactions avec l'environnement direct selon différentes modalités de conservation.

Les deux molécules diffèrent fortement par leurs propriétés physiques et chimiques, mais leurs descripteurs moléculaires présentent des similarités. Ces molécules sont très proches, tout en ayant des différences comportementales liées à leurs formes physiques. Ces différences ont été mises en exergues par une étude de stabilité physique et chimique dans le cadre du développement d'une formulation pharmaceutique. Les comparaisons sont réalisées entre deux formulations orales à base d'AS et d'ATH.

L'objectif spécifique de l'étude était le développement d'une formulation d'amoxicilline orale faible dose pour la réalisation de test de réintroduction allergologique.

L'amoxicilline est un antibiotique de type β-lactamine, ayant une action bactéricide à large spectre. Il est largement utilisé du fait de son efficacité et sa bonne tolérance. Cependant, après administration orale d'une dose d'amoxicilline, une intolérance allergique a été rapportée dans 0,5 à 2 % des cas. Ces réactions allergiques sont principalement cutanées (éruption, rash, urticaire, prurit) et peuvent s'accompagner d'autres symptômes, notamment cardiorespiratoires : angio-œdème et choc anaphylactique potentiellement mortels [55]. L'hypersensibilité à l'amoxicilline, dont l'incidence est souvent surestimée, est diagnostiquée par un test de réintroduction [56] [57]. Ce test consiste à administrer aux patients des faibles doses d'antibiotique par voie orale.

En l'absence de forme orale existante, le test de réintroduction nécessite la réalisation d'une préparation pharmaceutique dans une pharmacie hospitalière, selon les Bonnes Pratiques de Préparation (BPP) [67]. Les BPP exigent la réalisation d'une étude de faisabilité incluant des critères médicaux, scientifiques, pharmaceutiques et techniques. Cela inclut la rationalisation du choix du principe actif. Le choix de la forme physique d'amoxicilline, *i.e* amoxicilline sodique

(AS) amorphe ou amoxicilline trihydraté (ATH) cristalline, ainsi que des excipients aura un impact fort sur la durée de stabilité de la formulation.

Ainsi, ce travail est un support à la rationalisation du choix de la source de PA pour le développement d'une formulation orale d'amoxicilline 5 mg pour test de réintroduction allergologique. L'ACQ principal est la stabilité chimique du principe actif. L'ACQ secondaire est la stabilité physique du mélange. L'étude de la stabilité est réalisée selon la méthodologie ESPA.

3.2 Matériel et Méthode

Deux formulations d'amoxicilline 5 mg à base d'AS ou d'ATH diluées dans la cellulose microcristalline (CMC) ont été réalisées. Les deux formulations comparées sont présentées en Tableau 23. L'amoxicilline sodique était amenée pure, sans excipient, tandis que l'amoxicilline trihydraté était apportée sous forme de gélules de Clamoxyl® dont l'excipient majoritaire est le stéarate de magnésium.

Tableau 23: formulations des gélules d'amoxicilline 5 mg AS ou ATH.

Formes orales	**Quantité (mg)**
Formulation d'AS	
AS	5,31
Equivalent en amoxicilline	5,00
CMC	65
Ratio AS/CMC (%)	8,2
Formulation d'ATH	
ATH	5,74
Equivalent en amoxicilline	5,00
CMC	60
Ratio ATH/CMC (%)	9,6

La comparaison de la stabilité physique et chimique de deux formulations d'amoxicilline 5 mg a été réalisée selon plusieurs méthodes.

Tout d'abord, les descripteurs moléculaires d'AS et ATH ainsi que leurs propriétés physico-chimiques ont été recherchés depuis les bases de données libre accès : Chemaxon® et Drugbank®. Ensuite, l'étude de stabilité est réalisée par ESPA.

L'ACQ principal est la stabilité chimique de l'amoxicilline dans chacune des formes en fonction du temps d'analyse. Elle est évaluée par HPLC-UV. Le système HPLC (Agilent® 1290 Infinity Quaternaire LC System, Les Ulis, France) était composé d'une pompe binaire, un dégazeur, un four a colonne thermostaté à 25 °C, un autosampler et un détecteur à barrette de diode. La phase stationnaire était une colonne Kinetex® C_{18} 150 x 4.6 mm ; 2.6 µm (Phenomenex® Torrance, CA). La phase mobile était un mélange eau / acétonitrile (90/10, v/v) filtrée (filtre en nylon 0.2 µm) et dégazée, a débit 1 mL/minute en mode isocratique. La longueur d'onde de quantification était de 273 nm, les éventuels produits de dégradation étaient recherchés entre 190 et 400 nm. Le volume d'injection était de 10 µL. Le protocole de validation incluait linéarité (r^2 = 0,999), répétabilité (2,6 %), reproductibilité (5,8 %), justesse (3,26 %) et validation du profil d'exactitude (λ = 10 % ; β = 80 %).

L'attribut qualité secondaire est l'étude de la stabilité physique et chimique du mélange par spectroscopie vibratoire (Infrarouge à Transformée de Fourier IRTF). La spectroscopie vibrationnelle a été mesurée par spectroscopie infrarouge (ATR-FTIR 3800-400 cm^{-1}, Nicolet®iS 50 FR-IR, Thermoscientific®).

Les attributs de qualités ont été ensuite modélisés selon la méthode ESPA. Le principe méthodologique de l'ESPA est de forcer l'instabilité ou l'évolution d'un ACQ, de le représenter mathématiquement, puis de l'extrapoler. Les conditions de conservation et le suivi temporel de l'évolution des ACQ sont définis selon la méthodologie semi accélérée. Les lots pilotes de gélules d'amoxicilline 5 mg sont incubés dans différentes conditions environnementales. Elles permettent à la fois une synergie des effets combinés de température et humidité, mais également une dissociation de ces effets. Les temps d'analyse doivent être suffisamment longs afin d'objectiver une évolution des ACQ, mais également suffisamment courts afin d'apporter des éléments de réponse au plus vite. L'évolution temporelle de l'ACQ principal a été mesurée pour chaque formulation. À partir des données expérimentales générées lors de l'ESPA, la recherche du modèle mathématique le mieux corrélé aux données a été réalisée. Les données ont été comparées aux modèles proposés dans le Tableau 22. La modélisation est faite par le logiciel « R ». Les fonctions « nls », « tidy », « coefficients », « BIC », « AIC », et « gg_plot » sont utilisées. Le modèle ayant la meilleure corrélation avec les données expérimentales, évaluée par l'EQM, les CIA et BIA est utilisé pour prédire la stabilité de chaque formulation.

3.3 Résultats

L'analyse des spectres obtenus par IRTF a mis en évidence (i) une région spectrale propre à l'amoxicilline non masquée par la CMC, (ii) une absorption d'eau par la CMC dans les environnements de stockage fortement humides et (iii) l'altération de la région spectrale spécifique à l'amoxicilline pour les environnements à contraintes fortes.

L'analyse HPLC-UV a mis en évidence différentes cinétiques de dégradation de l'amoxicilline selon la forme utilisée, et selon les contraintes environnementales appliquées. Les résultats sont présentés Figure 26 et Figure 27. Ces résultats montrent une stabilité de l'AS dans des milieux à faible humidité relative quelle que soit la température appliquée. L'AS devient cependant très instable lorsque l'humidité augmente. À partir de 75 % d'HR et au-delà, l'AS va subir une rapide et intense dégradation objectivée à la fois en HPLC-UV (dégradation chimique) mais également en IRTF (dégradation physique et chimique). À l'inverse, l'ATH reste relativement stable pendant la durée de l'étude quelles que soient les contraintes de température et d'humidité appliquées.

Les données expérimentales ont été générées pour chaque formulation dans chaque condition de stockage aux différents temps d'analyse. Avec ces données, le modèle de dégradation cinétique le mieux corrélé a été recherché pour chacune des formes d'amoxicilline. Le modèle le plus pertinent est choisi à partir de l'analyse des paramètres statistiques de CIA, BIA et EQM comme présenté précédemment.

Le modèle cinétique le mieux corrélé aux données expérimentales de l'AS était le modèle accéléré avec le descripteur d'humidité en facteur exponentiel. Ce modèle peut décrire les réactions de nucléation des lois de puissance, JMAEK, ou auto-catalytique de Prout-Tompkins. La représentation graphique de la prédiction de la stabilité de la formulation de gélules d'amoxicilline 5 mg fabriquées à partir de l'AS est présentée en Figure 28.

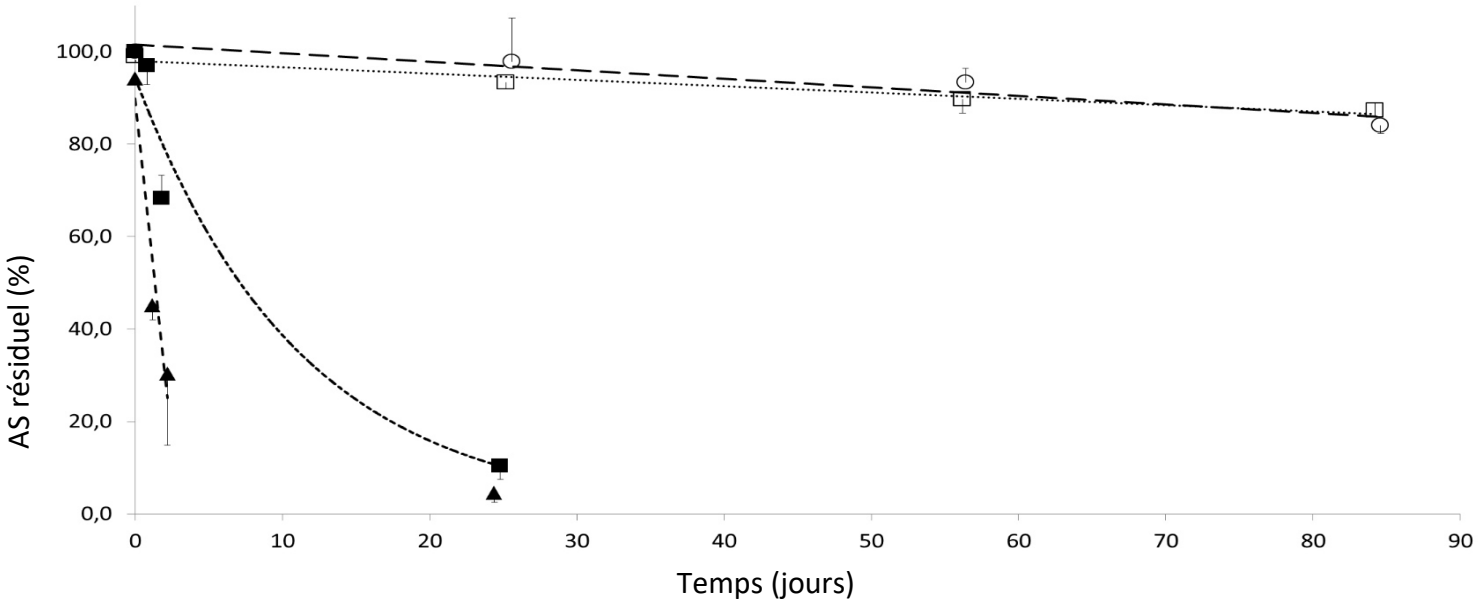


Figure 26: profil de dégradation de la formulation d'amoxicilline 5 mg gélule réalisée à partir d'un sel d'amoxicilline sodique conservée à (□) 25 °C / 60 % HR; (○) 60 °C / 5 % HR, (■) 25 °C / 80 % HR; et (▲) 40 °C / 75 % HR. Chaque point est la moyenne ± écart type de N = 5 mesures.

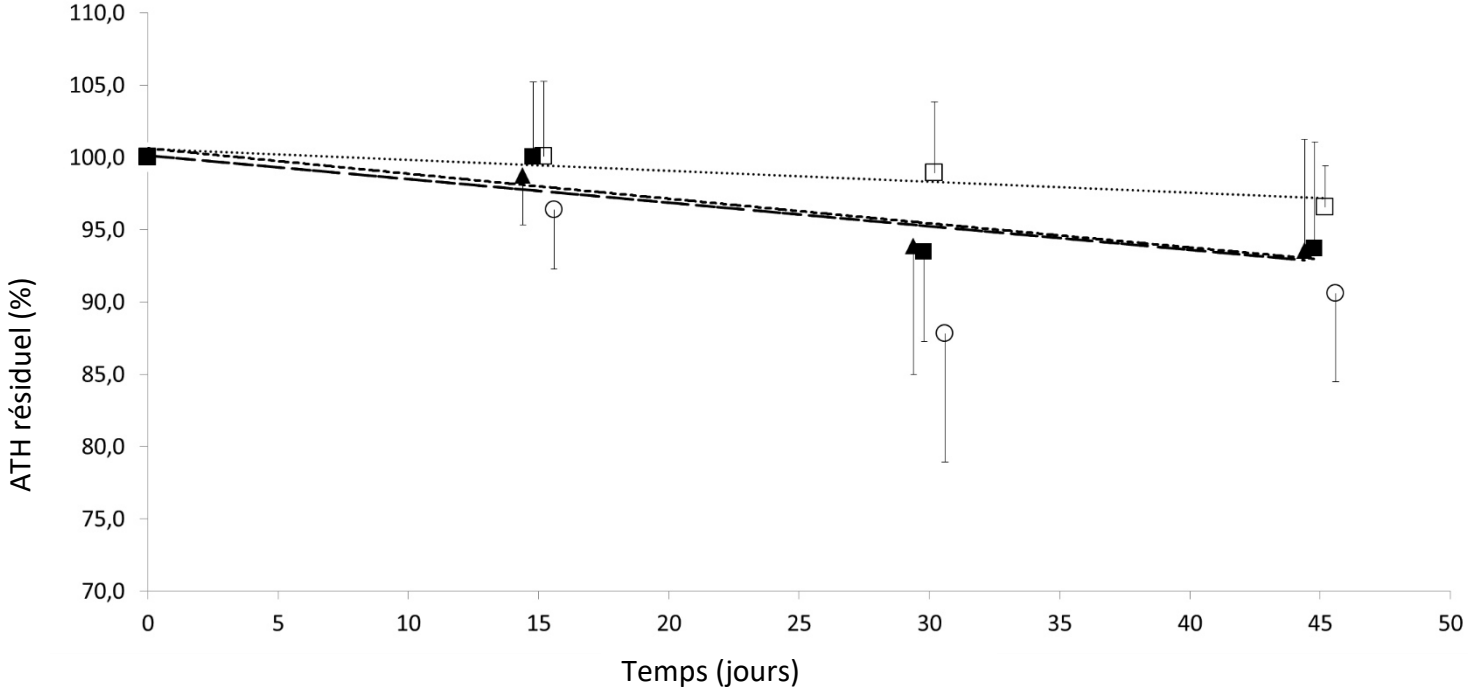


Figure 27: profil de dégradation de la formulation d'amoxicilline 5 mg gélule réalisée à partir d'amoxicilline trihydraté conservée à (□) 25 °C / 60 % HR; (○) 60 °C / 5 % HR, (■) 25 °C / 80 % HR; et (▲) 40 °C / 75 % HR. Chaque point est la moyenne ± écart type de N = 5 mesures.

Le modèle cinétique le mieux corrélé aux données expérimentales de l'ATH était le modèle linéaire avec le descripteur d'humidité en facteur exponentiel. Ce modèle peut décrire les réactions d'ordre zéro. La représentation graphique de la prédiction de la stabilité de la formulation de gélules d'amoxicilline 5 mg fabriquées à partir de l'ATH est présentée Figure 29.

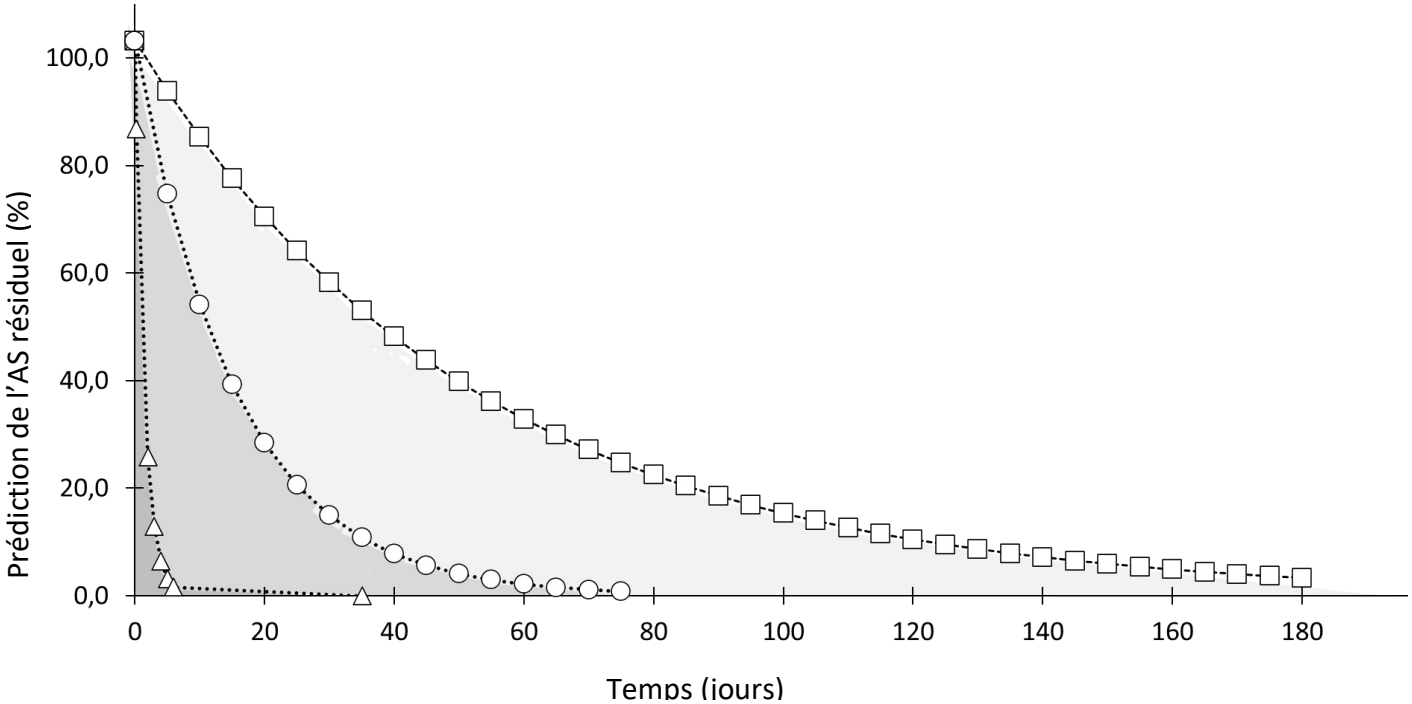


Figure 28 : profils cinétiques de dégradation de l'amoxicilline prédits pour la formulation d'amoxicilline 5 mg gélules fabriquées à partir d'AS. Le modèle le mieux corrélé aux données expérimentales a été choisi et extrapolé dans les conditions environnementales recommandées par la CIH : (□) 25 °C / 60 % HR; (○) 30 °C / 65 % HR; et (Δ) 40 °C / 75 % HR. Les nuances de gris colorent les Aires Sous la Courbe (ASC) de chaque condition. Le gris foncé colore l'ASC de la condition 40 °C / 75 % HR, le gris intermédiaire l'ASC de 30 ° C / 65 % HR et le gris clair l'ASC de 25 °C / 60 % HR.

Les deux représentations mettent en évidence la différence de sensibilité aux conditions environnementales de chacune des deux formes d'amoxicilline. L'AS, fortement sensible à l'humidité, montre une instabilité proportionnelle à l'augmentation de l'HR environnementale. L'ATH présente lui une certaine stabilité et semble plus sensible aux effets combinés de température et d'humidité qu'à l'un ou l'autre des paramètres environnementaux individuels.

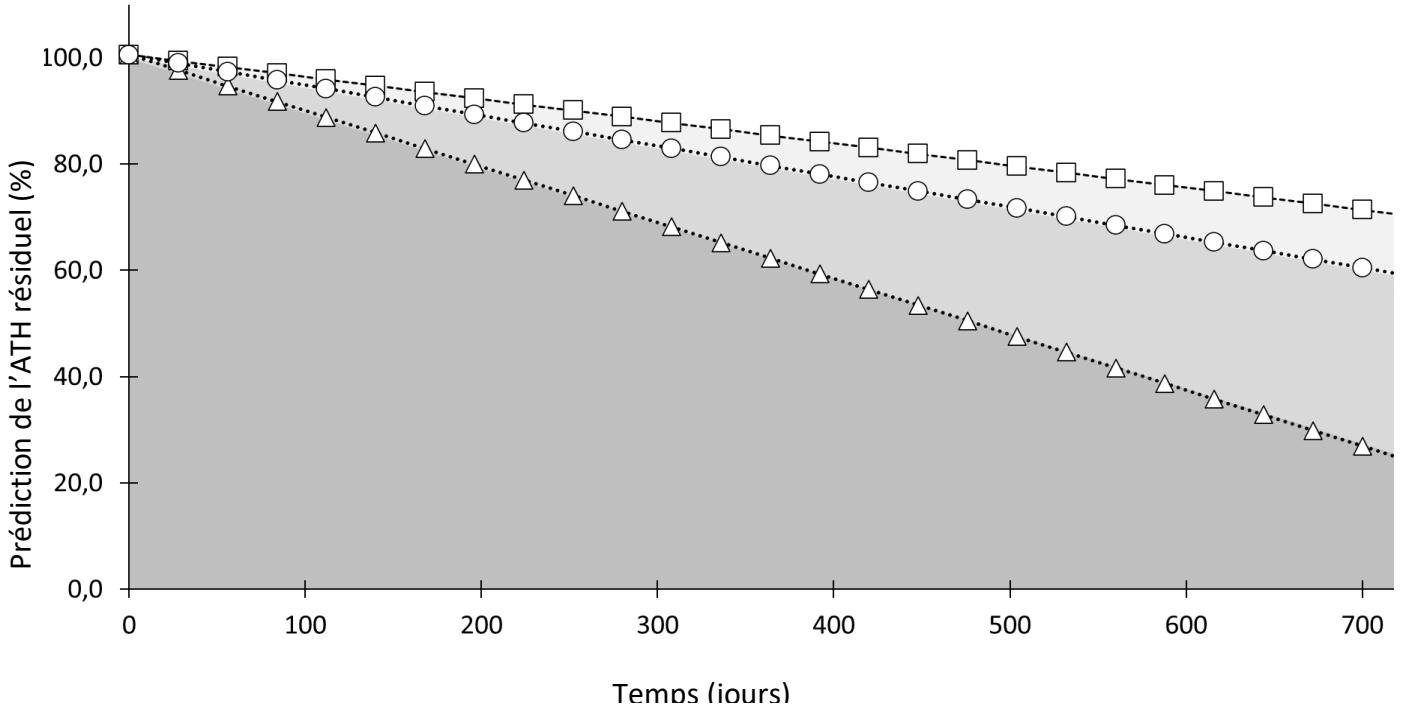


Figure 29 : profils cinétiques de dégradation de l'amoxicilline prédits pour la formulation d'amoxicilline 5 mg gélules fabriquées à partir d'ATH. Le modèle le mieux corrélé aux données expérimentales a été choisi et extrapolé dans les conditions environnementales recommandées par la CIH : (□) 25 °C / 60 % HR; (○) 30 °C / 65 % HR; et (Δ) 40 °C / 75 % HR. Les nuances de gris colorent les Aires Sous la Courbe (ASC) de chaque condition. Le gris foncé colore l'ASC de la condition 40 °C / 75 % HR, le gris intermédiaire l'ASC de 30 ° C / 65 % HR et le gris clair l'ASC de 25 °C / 60 % HR.

3.4 Discussion et conclusion

Cette étude présente une analyse des stabilités de deux formulations : AS et ATH à 5 mg dans un système bi-composants (amoxicilline – CMC). L'étude de stabilité a été réalisée selon la méthodologie ESPA. Les ACQ définis étaient la stabilité chimique et physique des formulations. Les méthodes d'analyse étaient l'HPLC-UV et la spectroscopie vibratoire par IRTF.

La principale différence entre les formulations était l'origine du PA : AS ou ATH. L'AS était un cristal amorphe présenté sous forme d'un lyophilisat pur, sans excipient. L'ATH était présenté sous forme d'un cristal orthorhombique apporté par un comprimé de Clamoxyl 500 mg dont l'excipient diluant était le stéarate de magnésium.

Les principales différences entre les descripteurs moléculaires et les propriétés physiques et chimiques des deux formes d'amoxicillines étaient (i) le ratio du nombre d'atomes hydrogènes donneurs sur le nombre d'hydrogènes accepteurs, (ii) la solubilité aqueuse et (iii) la géométrie de la structure cristalline. Cette combinaison de facteurs pourrait expliquer d'une part la sensibilité à l'eau des deux formes. Le lyophilisat d'AS doit adsorber et absorber l'eau environnementale pour rester thermodynamiquement stable. Cette sorption conduit à la formation de poches induisant l'hydrolyse de l'amoxicilline. A l'inverse, le cristal orthorhombique d'ATH présente une stabilité consolidée par un ratio hydrogène donneur / accepteur neutre et sa géométrie ordonnée et stabilisée par trois molécules d'H_2O. Ces propriétés vont prévenir la sorption d'eau sur et dans le cristal, et protéger stériquement les sites hydrolytiques de la molécule. Un complément d'imagerie par microscopie optique et une analyse radiocristallographique permettrait d'objectiver les structures des deux cristaux, leur évolution physique ou chimique, et la formation de poches d'eau. L'hypothèse d'une absence d'interaction entre les formes d'amoxicilline et la CMC triturée, démontrée par spectroscopie vibratoire et par recherche bibliographique, serait également explorable par microscopie et cristallographie. Il en est de même avec la sorption d'eau de la CMC - ou de tout autre excipient en formulation - pendant les opérations de fabrication.

L'étude de stabilité a été réalisée par ESPA [33]. Grâce à cette méthode, une étude de stabilité sur une durée courte, dans des conditions forcées, permet une prédiction de la stabilité à long

terme d'une formulation pharmaceutique. Cette méthodologie a été appliquée avec succès au cours de cette étude. Les mesures réalisées sur des temps courts, *i.e* 45 jours pour l'AS et 90 jours pour l'ATH, ont permis d'obtenir un ordre de grandeur de la durée de stabilité espérée pour les deux formulations. Cependant, les données générées ne permettent pas d'attribuer une durée de conservation précise pour ces deux formules pour deux raisons.

Tout d'abord, l'étude a été réalisée en flacon ouvert. Les gélules ont donc été exposées à de fortes teneurs en eau environnementale. Même si cette configuration est un « pire des cas », elle ne reflète pas les conditions réelles de conservation de ces formules. En effet, en vie réelle, les gélules seraient conditionnées en flacons fermés. Alors, l'humidité à l'intérieur du flacon dépendrait (i) de l'hygrométrie environnementale, donc de la météo de la zone d'utilisation, (ii) de la perméabilité du flacon à l'eau (notamment du pas de vis de fermeture) et (iii) du nombre d'ouvertures du flacon. Si les deux paramètres sont quantifiables et modélisables, le 3ème présente un caractère plus aléatoire [58].

Secondement, le nombre de conditions environnementales appliquées et de points d'analyse est insuffisant pour assurer une prédiction fine de la durée de conservation. En effet, le design expérimental permettrait une modélisation plus précise si, tout d'abord, d'autres conditions environnementales avaient pu être appliquées. L'idéal serait un design d'étude en losange comme proposé par Clancy et Scrivens [59]. Aux conditions environnementales appliquées, il en faudrait plusieurs supplémentaires. Tout d'abord, une condition forte de température et humidité combinées, par exemple 60 °C / 80 % RH. Ensuite, une gamme de température croissance couplée à une humidité faible, par exemple 25 °C / 25 % HR ; 40 ° C / 25 % HR et 60 °C 25 % HR, et enfin à l'inverse une gamme d'humidité croissante couplée à une température modérée : 25 °C 30 % HR ; 25 °C 50 % HR ; 25 °C 70 % HR. De plus, les temps d'analyse ne peuvent pas être standardisés. Ceux-ci doivent être adaptés à la formulation étudiée. L'exemple dans ce travail de l'AS dont l'effondrement des concentrations est objectivé dès les premiers jours de l'étude, tandis que l'ATH ne présente que peu ou prou de dégradation même au bout des 90 jours de l'étude est significatif. L'étude doit simplement s'arrêter lorsque les données générées permettent d'objectiver une dégradation suffisante pour modéliser convenablement. Dans notre étude, l'AS est trop rapidement dégradé et ne permet pas une modélisation fine de l'action de l'humidité environnementale entre 60 % HR et 80 % HR. C'est la raison pour laquelle

le modèle de prédiction à 25 °C et 60 % HR n'est pas convenablement corrélé aux données expérimentales, alors que la modélisation des autres conditions l'est. Quant à l'ATH il pourrait être intéressant de forcer sa dégradation dans des conditions plus fortes. En effet, dans cette étude, la dégradation d'ATH reste limitée, et l'hypothèse de ne pas avoir mis en évidence une voie de dégradation ne peut être exclue.

Malgré ces deux limites, la méthodologie appliquée dans ce travail permet de répondre à la problématique : quelle forme d'amoxicilline est la plus favorable pour formuler les gélules à 5 mg. L'AS du fait de sa forte sensibilité à l'humidité environnementale n'est pas un choix favorable. Et ce même si les flacons étaient fermés. La perméation du plastique à l'eau et la fréquence des ouvertures du flacon feraient drastiquement chuter les concentrations en amoxicilline sur le long terme.

Ainsi, ce travail répond à la problématique de rationalisation de la formulation. Cependant, la seconde problématique consistant à rechercher des descripteurs moléculaires et propriétés physico-chimiques impactant de manière quantifiable la cinétique de dégradation des principes actifs nécessite l'exploration par cette même méthodologie ESPA chimique et physique d'autres molécules et formulations. La prednisone microcristalline, par sa structure cyclopentanoperhydrophénanthrènique complexe, sa structure cristalline microcristalline et sa faible appétence pour l'eau apporterait des données intéressantes pour répondre à cette problématique.

Article: Measurement, analysis and prediction of amoxicillin oral dose stability from integrated molecular descriptor approach and accelerated predictive stability (APS).

Pharmaceutical technology in hospital pharmacy, accepté le 1er septembre 2020.

Camille Merienne*, Chloe Marchand, Samira Filali, Damien Salmon, Christine Pivot and Fabrice Pirot

Measurement, analysis and prediction of amoxicillin oral dose stability from integrated molecular description approach and accelerated predictive stability (APS)

https://doi.org/10.1515/pthp-2020-0009
Received June 18, 2020; accepted September 1, 2020;
published online October 9, 2020

Abstract

Background: Stability of low amoxicillin oral dosage form (5 mg) used in reintroduction drug test was not fully documented. Furthermore, the impact of (1) salt moiety of amoxicillin and (2) amoxicillin – excipient interactions upon the antibiotic formulation stability during the storage was not characterized so that the estimation of the pharmaceutical expiration date from shelf-life was uncertain. Thus, the main goal of this study was to estimate the shelf-life of two formulations of amoxicillin, using a semi-predictive methodology.

Methods: Amoxicillin sodium (AS) and amoxicillin trihydrate (ATH), corresponding to 5-mg amoxicillin, were compounded with microcrystalline cellulose (MCC) in oral hard capsules which were, then, submitted to four environmental conditions (25 °C / 60% or 80% relative humidity (RH); 40 °C / 75% RH; 60 °C / 5% RH) in climatic chambers for 45 and 84 days. Therefore, the characterization of amoxicillin-MCC mixture was assessed by attenuated total reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) The profiles of amoxicillin content (determined by stability indicating chromatographic method) as a function of storage time, temperature and RH were fitted to pre-defined kinetic models performed by accelerated predictive stability (APS).

Results: ATR-FTIR analysis of AS, ATH, MCC and bulk specimens stored in heated and humid atmosphere confirmed water sorption to cellulose described by a broad and unresolved 3600 to 3000 cm^{-1} band associated with (1) general intramolecular and intermolecular hydrogen bonding between water and hydroxyl groups of the cellulose, and with (2) free hydroxyl in cellulose. Moreover, a dramatic decrease of absorption at 1776 and 1687 cm^{-1} respectively characteristic of the β-lactam ring ($\nu_{C=O}$) and amide group ($\nu_{C=O}$), was revealed as a consequence of AS and ATH degradation caused by moisturization of bulk. Amoxicillin degradation was established by chromatographic analysis showing faster AS degradation than ATH throughout time exposure. The combined effects of temperature – RH were successfully modeled by APS, where AS and ATH showed accelerated (auto-catalysis degradation mechanism) and linear degradation, respectively. The faster AS degradation was assumed to be linked to lower hydrogen donor to hydrogen acceptor count ratio and polar surface than ATH, increasing the probability of AS hydrolysis by water adsorption to AS-MCC solid dispersion (e.g., by reduction of protective intramolecular hydrogen bonds between AS molecules). Furthermore, the compounding which involved a drastic homogenization of solids may have affected the crystalline degree of MCC with an increase of amorphous phase more sensitive to water adsorption.

Conclusions: The improvement of amoxicillin compounding for oral dose forms might be rationalized by taking into account the molecular descriptors of salt moiety and excipients, improved by the choice of an appropriate process of production, characterized from infrared vibrational spectroscopy and chromatographic analysis and finally predicted from accelerated stability assays.

Keywords: accelerated aging; hospital pharmaceutical compounding; hydrolysis; shelf-life.

***Corresponding author: Camille Merienne**, Pharm.D, Service Pharmaceutique, Groupement Hospitalier Centre Edouard Herriot, Place d'Arsonval, 69437 Lyon Cedex 03, Lyon, France. Phone: + 33 04 72 11 11 20, Fax: + 33 04 72 11 78 76, E-mail: camille.merienne@chu-lyon.fr. web address: Fripharm.com. https://orcid.org/0000-0003-2245-6562
Chloe Marchand, Samira Filali and Christine Pivot, Service Pharmaceutique, Groupement Hospitalier Centre Edouard Herriot, Place d'Arsonval, 69437 Lyon Cedex 03, Lyon, France
Damien Salmon and Fabrice Pirot, Service Pharmaceutique, Groupement Hospitalier Centre Edouard Herriot, Place d'Arsonval, 69437 Lyon Cedex 03, Lyon, France; Laboratoire de Recherche et Développement de Pharmacie Galénique Industrielle, UMR 5305, Plateforme Fripharm, Faculté de Pharmacie, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

Open Access. © 2020 Camille Merienne et al., published by De Gruyter. This work is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International License.

Introduction

The molecular, crystal or amorphous structure of one or some active pharmaceutical ingredients (API) mixed with several excipients affects the overall properties of pharmaceutical products in an intricate network of physicochemical interplay and influences. Therefore, the prediction of pharmaceutical product stability is made difficult and need the measurement and the individual chemical analysis of each API and excipients in essential long-term stability studies. The moisture absorbability of excipients and the salt moiety of API are well-known to impact e.g., the solubility and the hydrolysis of API. This property can modify with unexpected extent the forthcoming stability of initial dried solid-solid dispersion in oral dosage formulation. Amoxicillin (i.e. beta-lactam antibiotic with broad spectrum bactericidal action), API sensitive to hydrolysis, shows high efficacy and good tolerance. However, after oral administration of high amoxicillin dose, allergenicity was reported in 0.5–2.0 % of cases, including mainly cutaneous reaction (rash, hives, and itching), and also some severe adverse reactions such as angioedema and potentially fatal anaphylaxis [1]. To assess the potential hypersensitivity reaction to amoxicillin, often overestimated [2–3], the reintroduction drug test, exploring the allergy to amoxicillin treatments, is achieved by oral administration of low doses of antibiotic in patients. In absence of commercial oral dose forms, the reintroduction of amoxicillin test needs a hospital pharmaceutical compounding which implies an analysis of feasibility including technical and safety concerns. The choice of amoxicillin chemical moiety (e.g., amorphous amoxicillin sodium salt [AS] or amoxicillin trihydrate crystalline form [ATH]) as well as excipients is of crucial importance for a reasonable rationalization of formulation and proper estimation of the stability of oral dose form and shelf-life. The choice of amoxicillin moiety may be dictated by the availability of raw materials or the existence of commercial pharmaceutical specialties on the market. The latter, as a raw material, has the advantage of avoiding possible identification or purity checking prior to its use in a formulation. Furthermore, the choice of the diluent excipient is often made by using the main ingredient of the commercial amoxicillin specialties. However, although the process of preparation is straightforward, the chemical reactions between low doses of API dispersed in large amounts of excipients may be different from those predicted with commercial amoxicillin specialties having served as ingredients. Thus, it may complicate an estimation of API stability in new formulation entity and the prediction of medication shelf-life. The first objective of this study was to compare the chemical stability of AS and ATH loaded formulations in climatic chambers (i.e., temperature and relative humidity (RH) controlled) during accelerated stability test in order to discriminate the most stable oral dose form. The second objective was to predict the highest pharmaceutical shelf-life from degradation models in Accelerated Predictive Stability (APS) [4–7]. The specific objectives of the study was to characterize the mechanisms of drug instability from molecular descriptor analysis, vibrational spectroscopy, chromatographic assays and kinetic modeling which allow to rationalize the choice of API, ingredients and process of preparation for reintroduction amoxicillin test.

Material and methods

Molecular descriptors and physicochemical properties

AS and ATH molecular descriptors and physicochemical properties, collected from Drugbank® and Chemaxon® on-line databases, are shown in Table 1.

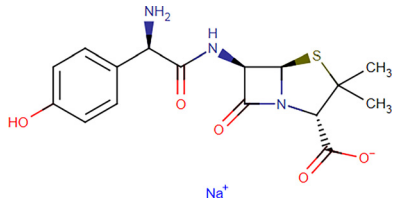
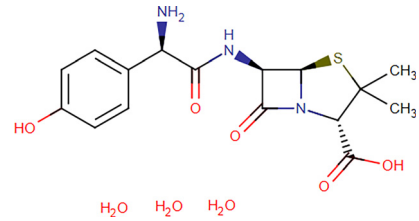
AS and ATH oral dosage forms

Commercial pharmaceutical specialties of amoxicillin were used as API sourcing for the preparation of amoxicillin hard capsules (AS: Amoxicillin 2G IV, Panpharma®, Fougères, France; ATH: Clamoxyl® 500 mg oral hard capsules, GSK®, Brentford, United Kingdom). Microcrystalline cellulose (MCC) was used as inactive ingredient and API diluent (Cooper® Melun, France). The main excipient of Clamoxyl® was the magnesium stearate. Once a technical and regulatory analysis of feasibility and risk was done, AS and ATH oral hard capsules were compounded according to qualitative and quantitative composition given in Table 2, in the respect of good preparation practices of medicinal products in healthcare establishments [8]. After a manual homogenization of AS, ATH, MCC powders in a mortar, a 5-mg amoxicillin mixture was loaded by a hand-operated capsule filling machine (LGA®, La Seyne-sur-Mer, France) in gelatin hard capsules (0.2 cm^3, Cooper®, Melun, France). Then, they were packaged (per 25 unit doses) in 50-mL white polypropylene jars (Gravis, Neuville-sur-Saône, France).

Accelerated predictive stability study conditions

The hard capsules were maintained in uncapped jars stored in climatic chambers regulated in temperature and RH allowing to test API and oral dosage form stability to standards of the International Conference on Harmonization (ICH, 25 °C / 60% RH and 40 °C / 75% RH) [9] as well as in custom environmental conditions (25 °C / 80%

Table 1: Molecular descriptors and physicochemical properties of AS and ATH.

Physicochemical parameters	AS	ATH
Formulas		
CAS number[a]	34642-77-8	61336-70-7
Molecular mass (g/mol)[a]	387.39	419.45
Hydrogen acceptor count[a]	6	6
Hydrogen donor count[a]	3	4
Polar surface (Å)[a]	135.8	132.96
Heavy atom count[a]	26	28
Rotatable bound[a]	4	4
Number of rings[a]	3	3
Water solubility (mg/mL)[a]	1.99	0.96
LogP[b]	−2.3	−2.3

[a]Estimated from DrugBank®.
[b]Estimated from Chemaxon®.

Table 2: Composition of amoxicillin sodium (AS) and amoxicillin trihydrate (ATH) based formulations compounded in the present study.

Oral dose forms	Amount (mg)
AS formulation	
AS	5.31
Equivalent to amoxicillin per capsule	5.00
MCC	65
Ratio AS/MCC (%)	8.2
ATH formulation	
ATH	5.74
Equivalent to amoxicillin per capsule	5.00
MCC	60
Ratio ATH/MCC (%)	9.6

Table 3: Experimental design of the ASAP study for AS and ATH formulations. Storage in ICH and non ICH conditions and time of storage.

Storage conditions	Time of storage (days)	
	AS formulation	ATH formulation
25 ± 2 °C, 60 ± 5% RH (ICH)	0 ; 25 ; 56 ; 84	0 ; 15 ; 30 ; 45
60 ± 2 °C, 5 ± 2% RH (non ICH)	0 ; 25 ; 56 ; 84	0 ; 15 ; 30 ; 45
25 ± 2 °C, 80 ± 5% RH (non ICH)	0 ; 1 ; 2 ; 25	0 ; 15 ; 30 ; 45
40 ± 2 °C, 75 ± 5% RH (ICH)	0 ; 1 ; 2 ; 25	0 ; 15 ; 30 ; 45

RH, relative humidity.

RH and 60 °C / 5 % RH). Identification assay of oral dosage form and the assessment of amoxicillin content (see next sections) were carried out (n = 5 dose units) immediately after compounding and after different time exposure in high, medium or low humidity conditions as reported in Table 3.

Multicomponent infrared analysis of amoxicillin dosage forms

A multicomponent analysis of amoxicillin mixture contained in hard capsules exposed to controlled temperature and RH was realized by attenuated total reflectance Fourier-transformed infrared spectroscopy (ATR-FTIR, 3800–400 cm^{-1}, Nicolet®iS 50 FT-IR Spectrometer, ThermoScientific®, Thermo Nicolet Corp.®, Waltham, MA), immediately after compounding and after a regular interval of time exposure. ATR-FTIR spectrum of individual components (AS, ATH and MCC) was recorded by a diamond crystal containing a standard deuterated triglycine sulfate detector (10-cm optical path, 32 scans with spectral resolution of 4 cm^{-1}). The spectra were compared to amoxicillin mixture and amoxicillin pharmacopeia standard [10]. Omnic Spectra® software was used to analyze individual and multi-component spectra.

Amoxicillin content and degradation analysis by stability-indicating HPLC-UV method

Amoxicillin content of oral dosage forms exposed to ICH and custom environmental conditions was quantified by high performance liquid chromatography and ultra-violet detection (HPLC-UV). HPLC system (Agilent 1290 Infinity Quaternary LC System, Les Ulis, France) was composed of a binary pump, a vacuum degasser, a thermostated column compartment (25 °C), an autosampler and a diode array detector. The stationary phase was a Kinetex® C_{18} 150 × 4.6; 2.6 µm column (Phenomenex®, Torrance, CA). Mobile phase was an isocratic mixture of water/acetonitrile (90/10, *v*/*v*) filtered and degassed through nylon membranes (0.20 µm) under vacuum before use. The

Table 4: Mathematical Models used for fitting experimental data of amoxicillin degradation in normal and accelerated environmental conditions.

Kinetic models		Formulas
Linear	Humidity as factor (A)	$\alpha(t) = \alpha(0) + K1.\ \exp\left(\frac{-K2}{T}\right).\exp(H.N_1).t$
	Humidity as power (B)	$\alpha(t) = \alpha(0) + K1.\ \exp\left(\frac{-K2}{T}\right).H^{N_1}.t$
Shaped	Humidity as factor (A)	$\alpha(t) = \alpha(0) + K1.\ \exp\left(\frac{-K2}{T}\right).\exp(H.N_1).t^{N_2}$
	Humidity as power (B)	$\alpha(t) = \alpha(0) + K1.\ \exp\left(\frac{-K2}{T}\right).H^{N_1}.t^{N_2}$
Accelerating	Humidity as factor (A)	$\alpha(t) = \alpha(0).\exp\ \left(K1.\ \exp\left(\frac{-K2}{T}\right).\exp(H.N_1).t\right)$
	Humidity as power (B)	$\alpha(t) = \alpha(0).\exp\ \left(K1.\ \exp\left(\frac{-K2}{T}\right).H^{N_1}.t\right)$
Decelerating	Humidity as factor (A)	$\alpha(t) = \alpha(0) + K3.\left(1 - \exp\left(-K1.\ \exp\left(\frac{-K2}{T}\right).\exp(H.N_1).t\right)\right)$
	Humidity as power (B)	$\alpha(t) = \alpha(0) + K3.\left(1 - \exp\ \left(-K1.\ \exp\left(\frac{-K2}{T}\right).H^{N_1}.t\right)\right)$

α is the extent of the reaction. t is the time. *K1*, *K2* and *K3* are respectively the fitted frequency factor, activation energy divided by R and asymptotic limit of the degradant at $t=\infty$. H is the humidity descriptor and T is the temperature (Kelvin). *N1* is the fitted exponent on humidity and *N2* is the fitted shape parameter.

flow rate was 1 mL/min. The wavelength of quantification was 273 nm while the degradation products were searched between 190 and 400 nm. The injection volume was 10 µL. The analytical method was validated according to ICH and French Society of Pharmaceutical Science and Technology recommendations [11]: linearity (R^2>0.99), repeatability (2.6%), reproducibility (5.8%), accuracy (3.26%), and accuracy profile (β=80%, α<10%). A sufficient resolution was searched between amoxicillin and the degradation products generated according to the « Methodological guidelines for stability of hospital pharmaceutical preparations » [12].

Degradation kinetic modelling

Amoxicillin dosage forms were expected to degrade faster when they are exposed to elevated stress conditions such as high temperature and / or humidity. In order to characterize the mechanisms underlying the pattern of amoxicillin degradation in solid dispersion (i.e., amoxicillin – MCC as drug–polymer two-component system), oral dosage forms were exposed to several temperature/RH combinations with the purpose of increasing the rate of amoxicillin degradation. The modifications of physicochemical properties of amoxicillin – MCC component system were estimated from vibrational spectroscopy while the amoxicillin content was tracked by a stability indicating chromatographic method. Indeed, in drug–polymer two-component system, two molecules (amoxicillin and MCC) could interact and have a cumulative effect on degradation causing a lower degradation rates at the beginning which increases gradually with time. Profiles of amoxicillin degradation were fitted to different mathematical models combining the effects of temperature and humidity in solid-state kinetics [5, 6]. In the model A, the degradation rate increases exponentially with the humidity. In the model B, the degradation rate raises to the power of a constant [6, 7]. Most pharmaceutical and biological models are based on the exponential pattern [13]. Degradation rate models A and B, detailed in Table 4, were fitted by using the statistical computing and graphic *software* "R" [14]. Models were evaluated through the Bayesian Information Criterion (BIC), Akaike Information Criterion (AIC) and the Relative Mean Square Error (RMSE) [6–15]. Finally, the best fitted model was used to predict the long-term degradation rate of amoxicillin over 24 months in the common ICH environmental conditions (25 °C / 60% RH, 30 °C / 65% RH and 40 °C / 75% RH).

Results

Multicomponent infrared analysis of amoxicillin dosage forms

ATR-FTIR spectra of (A) AS, (B) ATH USP standard, (C) MCC as individual components, (D, E) AS and (F, G) ATH loaded formulations immediately after compounding, 25 days of storage at 40 °C / 75% HR and 45 days at 25 °C / 60% RH are shown in Figure 1a. An enlargement of ATR-FTIR regions between 1900 and 1600 cm^{-1} allowed to distinguish typical 1776 and 1687 cm^{-1} absorption peaks characteristic of the β-lactam ring ($\nu_{C=O}$) and amide group ($\nu_{C=O}$). Interestingly, MCC presented two distinct domains with strongly enhanced IR absorption between (1) 3700–3000 cm^{-1} and (2) 1000–500 cm^{-1}. However, water absorption spectrum presented very intense and broad bands over the full mid-infrared region (notably at 3300 cm^{-1}) which was responsible for an increase of IR signal of amoxicillin dosage forms exposed to humidity. Furthermore, the impact of moisture upon AS and ATH – MCC systems was clearly evidenced by the dramatic decrease of 1776 and 1687 cm^{-1} signals which may be

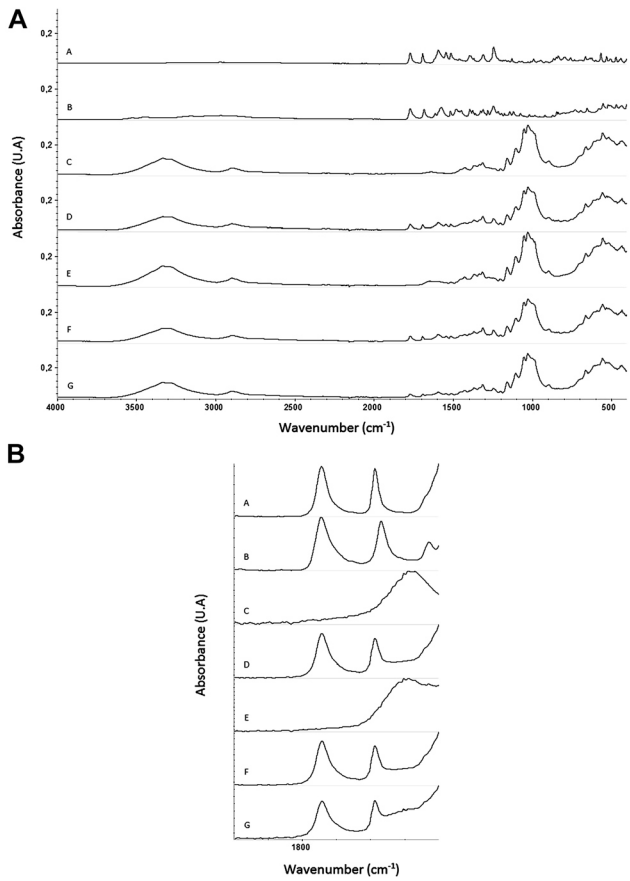


Figure 1: (a) ATR-FTIR spectra of (A) AS, (B) ATH USP standard, (C) MCC as individual components, (D, E) AS dosage forms immediately after compounding and after 25 days of storage at 40 °C / 75% HR, (F, G) ATH dosage forms immediately after compounding and after 45 days of storage at 25 °C / 60 % RH. (b): Enlargement of vibrations between 1600 and 1800 cm^{-1} allowing to distinguish typical 1776 and 1687 cm^{-1} absorption peaks characteristic of the β-lactam ring ($\nu_{C=O}$) and amide group ($\nu_{C=O}$).

explained by the fast hydrolysis of amoxicillin submitted to humidity and heat. Moreover, the degradation rate of ATH, roughly estimated by measuring the absorbance of the band corresponding to the carbonyl present in the drug molecule [16] was lower than the one of AS. This confirms the importance of amoxicillin moiety in product stability.

Amoxicillin content and degradation analysis by stability-indicating HPLC-UV method

Typical chromatograms of AS-MCC and ATH-MCC mixtures obtained immediately after compounding and after exposure to humidity and heat are presented in Figure 2. Different patterns of drug degradation were clearly evidenced as function of environmental conditions and amoxicillin moiety. Thus, as shown in Figure 3, the profiles of AS and ATH degradation showed that AS was relatively stable in normal and low humidity environment (25 °C / 60% RH and 60 °C / 5% RH) but was very unstable in high humidity environments (25 °C / 80% RH and 40 °C / 75% RH) (Figure 3A). The rate of degradation of ATH was lower than 10% and followed zero-order kinetic whatever the environment considered (Figure 3B). Therefore, the humidity is a determining factor in the rate of degradation of AS. It followed a zero-order kinetic at normal and low RH but an exponential decay at high RH (after 25 days at 25 °C / 60% RH and 60 °C / 5% RH, 93 and 98% AS remained, respectively, while after 2 days of storage, at 25 °C /80% RH and 40 °C /75% RH, 68 and 30% AS remained, respectively).

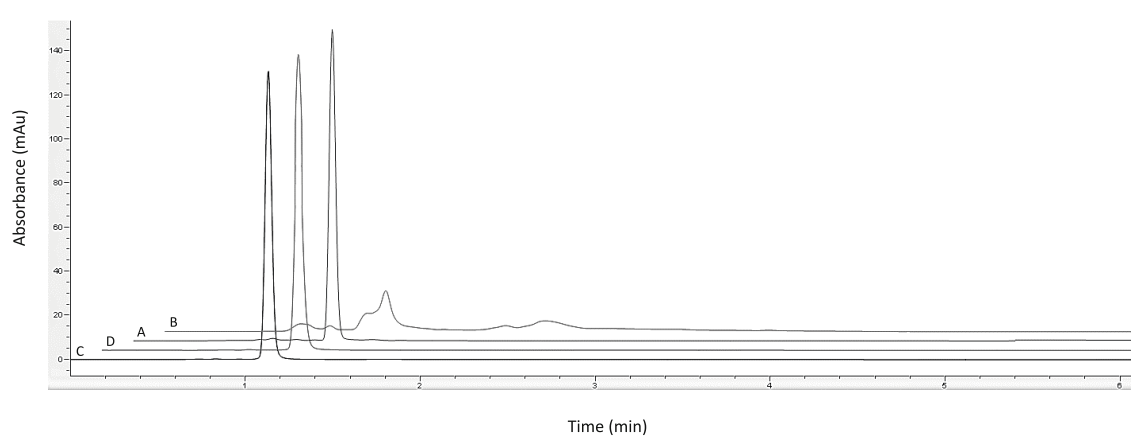


Figure 2: HPLC-chromatograms of (A, B) AS dosage forms immediately after compounding and after 45 days of storage at 25 °C / 60% RH (C, D) ATH loaded formulations immediately after compounding and after 25 days of storage at 40 °C / 75% HR.

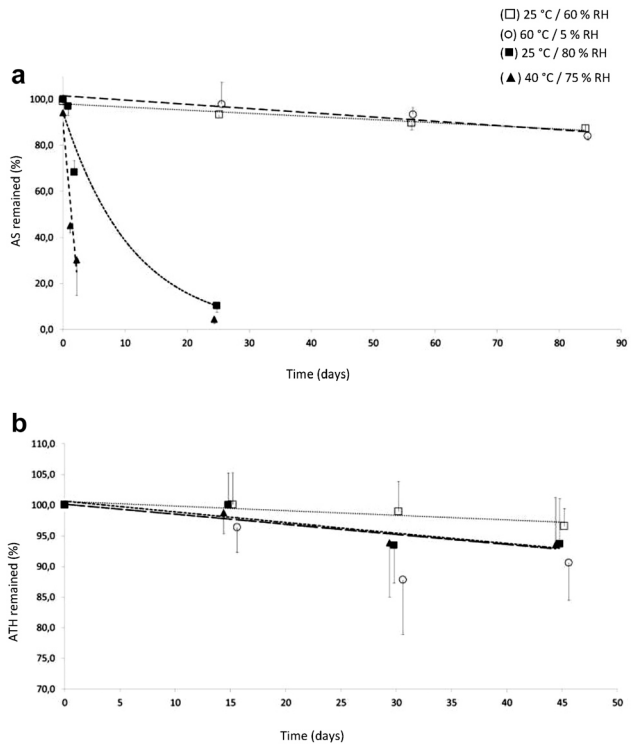


Figure 3: Degradation profiles of AS (Figure 3A) and ATH (Figure 3B) from dosage forms stored at (□) 25 °C / 60% RH (○) 60 °C / 5% RH (■) 25 °C / 80% RH; and (▲) 40 °C / 75% RH. Each data is the mean ± standard deviation of five experimental determinations.

Degradation kinetic modelling

The profiles of AS and ATH submitted to combined temperature and humidity conditions were fitted to previous models of degradation rate as shown in Table 4. The statistical analysis of experimental data fitted to those models is presented in Table 5. It includes the determination of rate constants, humidity and temperature related exponents and the RMSE, BIC and AIC statistical parameters. Degradation rate of AS was successfully fitted to the "A Accelerated model" characterized by lowest statistical values for RMSE, BIC and AIC (7.4, 368.9 and 360.6, respectively). The experimental data of ATH profile was best fitted to the "A linear model" (i.e., RMSE, BIC and AIC equal to 4.9, 388.1 and 378.9 respectively). Thus, the rate of degradation of amoxicillin in the two-component solid system was clearly influenced by the drug moieties. The determination coefficient was 0.89 for AS and 0.14 for ATH.

Shelf-life prediction of AS and ATH dosage form

The degradation models of AS (*A accelerated*) and ATH (*A linear*) were used for further shelf-life predictions of

Table 5: Modelling parameters calculated with "R" software.

Models	Formulation	Best fitting parameters							
		$-10^3 \bullet$ K1	$10^{-4} \bullet$ K2	K3	N1	N2	RMSE	BIC	AIC
A linear	AS[a]	8.1	10.7	–	11.4	–	11.9	386.7	378.4
	ATH	52.6	5.1	–	0.7	–	4.9	388.1	378.6
A shaped	AS[a]	212.7	7.6	–	7.2	0.6	8.0	380.0	370.4
	ATH	10.0	6.6	–	1.0	1.3	4.9	392.1	381.0
A decelerated	AS[a]	Unfitted	Unfitted	Unfitted	Unfitted	–	Unfitted	Unfitted	Unfitted
	ATH	6.0	5.2	5.3	0.8	–	4.9	392.1	381.0
A accelerated	AS[a]	0.012	11.8	–	11.3	–	7.4	368.9	360.6
	ATH	0.540	5.1	–	0.7	–	4.9	388.1	378.7
B linear	AS[a]	238 244.6	11.3	–	7.3	–	9.3	391.4	383.0
	ATH	93.9	5.2	–	0.2	–	4.9	38.1	378.7
B shaped	AS[a]	143 000	10.7	–	4.6	0.5	8.6	388.1	378.4
	ATH	21.6	6.8	–	0.3	1.4	4.9	392.1	381.0
B decelerated	AS[a]	Unfitted	Unfitted	Unfitted	Unfitted	–	Unfitted	Unfitted	Unfitted
	ATH	12.3	5.3	5.2	0.2	–	4.9	392.1	381.0
B accelerated	AS[a]	0.004	13.8	–	7.1		8.9	380.0	371.6
	ATH	0.96	5.2	–	0.2		4.9	388.1	378.7

[a]Data of AS at 25 ± 2 °C, 80 ± 5% RH and 40 ± 2 °C, 75 ± 5% RH after 25 days were excluded from the study taking account the extremely low amoxicillin content.

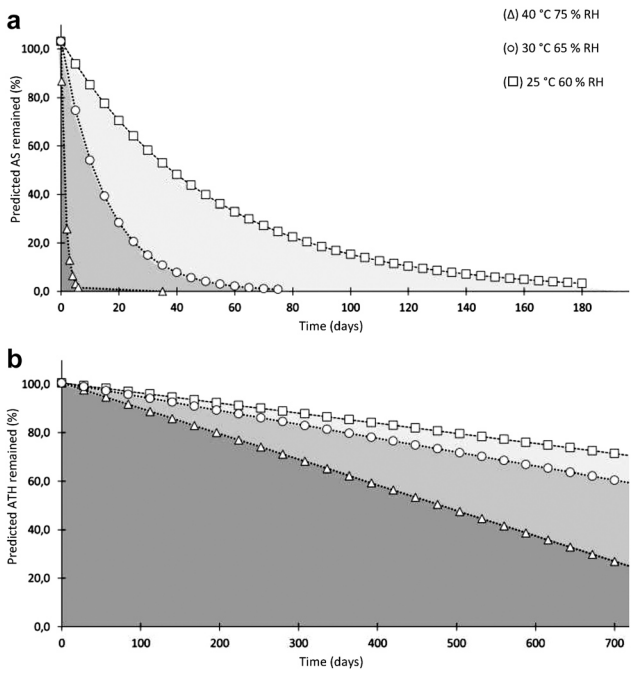


Figure 4: Predicted degradation profile with the best fitted kinetics models of AS (Figure 4A) and ATH (Figure 4B). Modeling was performed at common ICH climatic conditions: (□) 25 °C / 60% RH (○) 30 °C / 65% RH; and (Δ) 40 °C / 75% RH. The shade of grey depends on the intensity of the environmental constraints. If the environmental stocking conditions of the dosage forms are greater than 40 °C / 75% RH, the predicted degradation profile will be in the darkest grey zone. If the constraints are between 40 °C 75% RH and 30 °C / 65% RH, the degradations profiles will be in the middle grey zone. If the constraints are between 30 °C / 65% RH and 25 °C / 60% RH, the degradations profiles will be in the light grey zone.

amoxicillin dosage forms in three conditions of storage (25 °C / 60% RH, 30 °C / 65% RH and 40 °C / 75% RH) as shown in Figure 4. The shelf-life was defined as the time needed to degrade 10% of the initial AS content, which was the threshold fixed for the study. The shelf life was found equal to 7, 2 days and few hours after storage in 25 °C / 60% RH, 30 °C / 65% RH and 40 °C / 75% RH conditions, respectively. Exponential profiles of AS degradation were clearly predicted (Figure 4A) whatever the storage conditions whereas a linear profile of AS degradation was determined experimentally in 25 °C / 60% RH conditions. Therefore, the predicted shelf-life of AS dosage form was much shorter (7 days) than the one determined experimentally (55 days) as presented in Table 6. Similarly, ATH predicted content of the ATH formulation remained stable (i.e., ATH remained higher than 90%) for 250, 170 and 90 days in respectively 25 °C / 60% RH, 30 °C / 65% RH and 40 °C / 75% RH environments.

Discussion

In the present study, the determination of AS and ATH stability in a two-component system (i.e., amoxicillin-MCC) was investigated in order to appreciate the shelf-life of API-excipient mixture filled in hard capsules submitted to four environmental conditions (normal and accelerated) with four time points for a fit-for-purpose APS study. The main difference between both formulations was the raw material: AS and ATH. AS was an amorphous crystal presented as a lyophilizate without any other excipients. ATH was an orthorhombic crystalline structure with magnesium stearate as excipient. In this lean approach, APS application was to test and compare the stability of amoxicillin moieties from straightforward formulation in which amoxicillin mixed with MCC was assayed by HPLC-UV [17]. Furthermore, amoxicillin-MCC mixture integrity was concomitantly evaluated by ATR-FTIR to characterize the stability of the formulation. The

Table 6: Experimental and predicted shelf life of AS (days), experimental and predicted percentage of ATH remaining at the end of the stability study, and predicted ATH shelf life (days) at the four environmental conditions of the study (25 °C / 60 and 80% RH, 40 °C / 75% RH and 60 °C / 5% RH).

Dosage forms				Storage conditions
	25 °C / 60% RH	25 °C / 80 %RH	40 °C / 75 %RH	60 °C / 5 %RH
AS shelf life (days)				
Experimental	55	0.5	0.25	70
Predicted	7	0.75	0.2	60
ATH shelf life (days)				
Predicted	250	245	90	60
ATH remaining at D45 (%)				
Experimental	98	99	96	93
Predicted	98.4	98.6	95.86	92

qualitative and quantitative results from chromatographic and spectrometric methods clearly showed that ATH was less sensitive to chemical degradation than AS. The AS fast degradation was due to hydrolysis caused by the moisture adsorption onto MCC and AS lyophilized form. The use of MCC as inactive ingredient presented several advantages such as an absence of complexation with amoxicillin. This was deduced from vibrational spectrometry analysis of raw ingredients and dosage forms showing no shifts of 1,776 and 1,687 cm^{-1} signals (i.e., $\nu_{C=O}$ β-lactam ring and amide group) [18]. However, the potential modification of MCC crystallinity by the grinding during the compounding may have had a crucial effect on the pharmaceutical properties of amoxicillin hard capsules. As reported earlier, a variation of structural properties of MCC would affect the extent of moisture absorbability and further amoxicillin hydrolysis [19]. If this hypothesis was confirmed, the duration of power grinding would affect the stability of the preparation. However, such ATR-FTIR spectrometry offered a rapid and versatile method for controlling (1) the moisture adsorption as a potential cause of API hydrolysis and (2) the decrease of the carbonyl liaison signal as a consequence of molecular alteration of API while HPLC assessed the products of degradation. The disordered amorphous structure of AS had likely favored its intrinsic propensity to bind water molecule. As a lyophilizate, it has a natural tendency to absorb environmental water. The AS dried structure is more thermodynamically stable after water sorption, which increases its hydrolysis rate. On the contrary the orthorhombic crystalline structure of ATH can be protective against water, as the major site of hydrolysis in the lactam core is sterically hindered [20, 21]. The ATH sourcing includes magnesium stearate in its formulation. This excipient is sparingly soluble in water. Even diluted in the capsules, the magnesium stearate can enhance the protection of the API against water, and hydrolysis. Furthermore, an estimation of intramolecular hydrogen bonding from the ratio of hydrogen donor to hydrogen acceptor count showed that ATH molecular structure offered more appropriate opportunity for protective intramolecular bonds than AS molecular structure. By limiting the number of inactive ingredients in the formulation, the mechanisms of amoxicillin degradation were explained by physicochemical parameters as the crystallinity of ATH-MCC compounding and the amorphous-crystal heterogeneous structure of AS-MCC mixture. Thus, capsules were stored in an opened jar bottle. Indeed, the aim of this study was to investigate the stability between the two API in the same formulation. The moisture effect was better highlighted with this layout. In a closed jar, the humidity effect would have been weighted by the water permeability of the plastic bottle used. Whereas uncapped jar environmental condition is more aggressive than normal conditions, it allows an analysis of the stability of both formulations in a worst case. Therefore, although a linear rate of degradation of ATH was claimed whatever the conditions of storage, a zero-ordered process of degradation of AS was experimentally shown in normal conditions (25 °C/60% RH) followed by an exponential decay of AS remained in accelerated conditions. It makes difficult to have an accurate prediction of AS dosage form shelf-life from composite linear-exponential model. It was assumed AS rate of degradation found its origin in auto-catalytic reaction primarily induced by surrounding moisture and MCC hydration. ATH degradation was linearly dependent on time without major contribution of temperature-humidity combined factors. The weak rate of degradation and the use of exponential models explained the low value of determination coefficient R^2 for ATH modelling and confirmed the linear kinetic of AS degradation. Therefore, it was assumed that diverse chemical pathways were activated according to the extent of temperature and humidity drastically modifying the pattern of AS degradation kinetics. To refine AS kinetic degradation model deriving from the classical solid-state kinetic models and the Waterman and Clancy equations [5–7], the lean approach should have been done with more than four storage conditions for an accurate deconvolution of the temperature and humidity importance as regard to degradation.

Conclusion

In the absence of commercial oral dose forms, the reintroduction amoxicillin test needs a hospital pharmaceutical compounding which implies an analysis of feasibility comprising proper estimation of stability of oral dose form and shelf-life. The choice of amoxicillin chemical moiety (e.g., AS or ATH) as well as excipients is of crucial importance for a reasonable rationalization of formulation. So far, in the present study, a rationalization of formulation was elaborated by considering (1) amoxicillin and MCC molecular structures, (2) vibrational spectrometry analysis of amoxicillin dosage forms, (3) the HPLC-UV quantification of amoxicillin degradation products (4) and the fit of experimental data to degradation models enabling to predict the shelf-life of amoxicillin dosage forms in a lean approach of storage conditions.

Acknowledgments: Author would like to thank Dr Patrick Nolain for his help in modelling and Dr Jean Vigneron for his critical assessment of this paper.
Research funding: None declared.
Author contributions: All authors have accepted responsibility for the entire content of this manuscript and approved its submission.
Conflict of interest statement: Authors state no conflict of interest.
Informed consent: Informed consent was obtained from all individuals included in this study.

References

1. Huttner A, Bielicki J, Clements MN, Frimodt-Møller N, Muller AE, Paccaud J-P, et al. Oral amoxicillin and amoxicillin-clavulanate: properties, indications, and usage. Clin Microbiol Infect 2019;25: 1552.
2. Shenoy ES, Macy E, Rowe T, Blumenthal KG. Evaluation and management of penicillin allergy: a review. J Am Med Assoc 2019; 321:188–99.
3. Ponvert C, Perrin Y, Bados-Albiero A, Bourgeois ML, Karila C, Delacourt C, et al. Allergy to betalactam antibiotics in children: results of a 20-year study based on clinical history, skin and challenge tests. Pediatr Allergy Immunol 2011;22: 411–8.
4. Waterman KC. The application of the accelerated stability assessment program (ASAP) to quality by design (QbD) for drug product stability. Am Assoc Pharm Sci PharmSci Tech 2011; 12:932.
5. Khawam A, Flanagan DR. Basics and applications of solid-state kinetics: a pharmaceutical perspective. J Pharm Sci 2006;95: 472–98.
6. Clancy D, Hodnett N, Orr R, Owen M, Peterson J. Kinetic model development for accelerated stability studies. Am Assoc Pharm Sci PharmSci Tech 2017;18:1158–76.
7. Waterman KC, Adami RC. Accelerated aging: prediction of chemical stability of pharmaceuticals. Int J Pharm 2005;293:101–25.
8. Bonnes Pratiques de Préparation. France: AFSSAPS; 2007. https://www.ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/a5d6ae4b3d5fdee013ca463462b7b296.pdf [Accessed 25 May 2020].
9. ICH harmonised tripartite guideline: stability testing of new drug substances and products Q1A(R2) 2003. https://database.ich.org/sites/default/files/Q1A%28R2%29%20Guideline.pdf [Assessed 25 May 2020].
10. Filali S, Bergamelli C, Lamine Tall M, Salmon D, Pivot C, Pirot F et al. Formulation, stability testing, and analytical characterization of melatonin-based preparation for clinical trial. J Pharm Anal 2017;7:237–43.
11. Hubert P, Nguyen-Huu J-J, Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, Cohen N, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. A SFSTP proposal–part II. J Pharm Biomed Anal 2007;45:70–81.
12. Sautou V, Brossard D, Chedru-Legros V, Crauste-Manciet S, Lagarce F, & Odou P. Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations. SFPC and GERPAC 2013;75:28–31.
13. Magari RT, Murphy KP, Fernandez T. Accelerated stability model for predicting shelf-life. J Clin Lab Anal 2002;16: 221–6.
14. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2005. ISBN 3-900051-07-0, URL: http://www.R-project.org.
15. Akaike H. Maximum likelihood identification of Gaussian autoregressive moving average models. Biometrika 1973;60: 255–65.
16. Trindade MT da, Salgado HRN. Development and validation of a modern and stability-indicating method for the quantification of ceftriaxone sodium in powder for injection by infrared spectroscopy. Phys Chem 2017;7:55–62. http://article.sapub.org/10.5923.j.pc.20170703.01.html.
17. Nägele E, Moritz R. Structure elucidation of degradation products of the antibiotic amoxicillin with ion trap MSn and accurate mass determination by ESI TOF. J Am Soc Mass Spectrom 2005;16: 1670–6.
18. Fenghe Qiu et Garry Scrivens. Accelerated predictive stability chap 4. accelerated predictive stability (APS). Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2018:76–103 pp.
19. Awa K, Shinzawa H, Ozaki Y. The effect of microcrystalline cellulose crystallinity on the hydrophilic property of tablets and the hydrolysis of acetylsalicylic acid as active pharmaceutical ingredient inside tablets. Am Assoc Pharm Sci PharmSciTech 2015;16:865–70.
20. Brittain HG. Solid-state fluorescence of the trihydrate phases of ampicillin and amoxicillin. Am Assoc Pharm Sci PharmSciTech 2005;6:E444–8.
21. Boles MO, Girven RJ, Gane PAC. The structure of amoxycillin trihydrate and a comparison with the structures of ampicillin. Acta Crystallogr B 1978;34:461–6.

4. Les préparations hospitalières de recours nécessitent une prédiction rapide de leur stabilité : application à la fabrication d'une formulation de prednisone orale.

4.1 Introduction

La pandémie au SARS-CoV-2 a challengé la chaine d'approvisionnement des médicaments, pouvant causer d'éventuelles ruptures d'approvisionnement en PA. Ainsi, avec l'accord de l'ANSM et pour une durée définie, les pharmacies hospitalières peuvent être sollicitées en recours pour la réalisation de préparations extemporanées. Le développement de ces préparations implique la réalisation d'une analyse de faisabilité et de risque, incluant une évaluation de la stabilité des préparations.

Au cours de ce second travail, la stabilité physique et chimique de deux formulations orales de gélules de prednisone 1-mg et 5-mg diluée dans la CMC a été évaluée. La méthodologie appliquée était proche de l'étude précédente. La stabilité physique et chimique des mélanges a été mesurée par IRTF et HPLC-UV. La méthodologie de l'étude de stabilité était celle recommandée par la CIH : évaluation de la stabilité au long cours dans un environnement ambiant (25 °C / 60 % HR) couplée à une évaluation accélérée (40 °C / 75 % HR). Les temps d'analyse étaient compris entre 0 et 6 mois pour les conditions accélérées, et entre 0 et 18 mois pour les conditions normales.

Les formulations développées sont destinées à un usage de recours, et à la recherche médicale. L'analyse de faisabilité selon les bonnes pratiques de préparation 2019 est présentée au Tableau 24.

Tableau 24 : analyse de faisabilité et de risque des gélules de prednisone 5-mg et 1-mg selon les bonnes pratiques de préparation 2019

Description et composition	
Dénomination de la préparation	1-mg Prednisone 5-mg Prednisone
Principe actif (PA)	Prednisone
Dosage	1-mg 5-mg
Excipient	Cellulose microcristalline
Conditionnement primaire	Flacons en polypropylène
Forme pharmaceutique	Gélule
Population cible	> 2 ans
Voie d'administration	Orale
Classe ATC	H02AB07
Réalisation selon les textes règlementaires	Pas d'interdiction, pas de restriction
Recul pharmacovigilance	Molécule bien connue
Intérêt	
AMM disponible	Oui
Formulaire national	Non
Justification de la préparation	Rupture d'approvisionnement Essai clinique
Données bibliographiques disponibles	Oui
Nécessité de fabriquer	Oui
Catégorie de risque	Risque 2*
Faisabilité technique partie 1 : locaux et équipement	
Locaux situés, conçus, construits adaptés et maintenus pour la réalisation des opérations pharmaceutiques	Oui
Equipements situés, conçus, construits adaptés et maintenus pour la réalisation des opérations pharmaceutiques	Oui
Assurance qualité conforme aux exigences	Oui
Personnel formé et qualifié	Oui
Faisabilité technique partie 1 : locaux et équipement	
MPUP disponible	Conforme
Procédés de fabrication	Conforme
Données de compatibilité contenant / contenu	Non applicable
Données de stabilité	Evaluation requise
Décision de réaliser la préparation	Oui

La prednisone est un PA intéressant. D'une part, elle est considérée par l'ANSM comme un Médicament d'Intérêt Thérapeutique Majeur (MITM) [60]. Il semble nécessaire de pouvoir disposer d'une formulation prête à l'emploi en cas de rupture nationale. De plus, elle présente des propriétés physiques et chimiques très différentes des deux formes d'amoxicilline étudiées précédemment. La prednisone est un cristal polymorphe [61]. Elle est particulièrement insoluble dans l'eau et dans les alcools. Du fait de ses propriétés, elle est utilisée comme calibrant pour les appareils de dissolution par l'USP. La confrontation de ses propriétés physiques, chimiques et ses descripteurs moléculaires aux modélisations de sa stabilité permettront de faire avancer la réflexion autour du lien entre propriétés intrinsèques aux molécules, inhérentes aux formulations et la stabilité tout en permettant à notre PUI de répondre au besoin en médicament expérimental et de disposer d'une formulation de prednisone prête à l'emploi si besoin.

4.2 Matériel et méthode

La stabilité des gélules de prednisone 1-mg et 5-mg a été étudiée ainsi. Deux formulations de prednisone 1-mg et 5-mg diluées dans la cellulose microcristalline (CMC) ont été réalisées. Les deux formulations sont présentées en Tableau 25.

Tableau 25 : formulations des gélules de prednisone à 1-mg et 5-mg.

Formes orales	**Quantité (mg)**
Formulation prednisone 1-mg	
Prednisone	1
MCC	73
Ratio Prednisone/MCC (%)	1,4 %
Formulation prednisone 5-mg	
Prednisone	5
MCC	72
Ratio Prednisone/MCC (%)	6,9 %

Les descripteurs moléculaires et les propriétés physiques et chimiques de la prednisone microcristalline ont été collectées depuis les bases de données libre accès PubChem® et Drugbank®.

Puis, l'étude de stabilité a été réalisée selon la méthodologie CIH conventionnelle. Les formulations ont été stockées en flacons polypropylènes fermés dans deux environnements climatiques. Le premier est un environnement de vieillissement normal : 25 °C / 60 % HR. Le second est un environnement de vieillissement accéléré : 40 °C / 75 % HR. Les temps d'analyse étaient également préconisés par la CIH.

L'ACQ principal est la stabilité chimique, exprimée selon le pourcentage de concentration restant de la prednisone dans chacune des formes en fonction du temps d'analyse. Il est évalué en mesurant les concentrations par HPLC-UV. Le système HPLC (Agilent® 1290 Infinity Quaternaire LC System, Les Ulis, France) était composé d'une pompe binaire, un dégazeur, un four a colonne thermostaté à 25 °C, un autosampler et un détecteur à barrette de diode. La phase stationnaire était une colonne Luna® C_{18} 150 x 4.6 mm ; 2.6 µm (Phenomenex® Torrance, CA). La phase mobile était un mélange eau / acétonitrile (75/25, v/v) filtrée (filtre en nylon 0.2

µm) et dégazée, a débit 1 mL/minute en mode isocratique. La longueur d'onde de quantification était de 254 nm, les éventuels produits de dégradation étaient recherchés entre 190 et 400 nm. Le volume d'injection était de 20 µL. Le protocole de validation incluait linéarité (r^2 = 0,998), répétabilité (1,35 %), reproductibilité (2,56 %), justesse (0,29 %) et validation du profil d'exactitude (λ = 10 % ; β = 80 %).

L'attribut qualité secondaire est l'étude de la stabilité physique et chimique du mélange prednisone-CMC par spectroscopie vibratoire (Infrarouge à Transformée de Fourier IRTF). La spectroscopie vibrationnelle a été mesurée par spectroscopie infrarouge (ATR-FTIR 3800-400 cm^{-1}, Nicolet®iS 50 FR-IR, Thermoscientific®). L'absorption d'eau par la CMC seule en environnement humide a également été évaluée par spectroscopie vibrationnelle.

L'évolution temporelle des ACQ a été mesurée pour chaque formulation. À partir des données expérimentales générées lors de l'étude de stabilité, la recherche d'un modèle mathématique corrélé aux données expérimentales a été réalisée. Les données ont été comparées aux modèles proposés dans le Tableau 22. La modélisation est faite par le logiciel « R ». Les fonctions « nls », « tidy », « coefficients », « BIC », « AIC », et « gg_plot » sont utilisées. Le modèle ayant la meilleure corrélation avec les données expérimentales, évalué par l'EQM, les CIA et BIA est utilisé pour représenter mathématiquement l'évolution de la stabilité chimique de chaque formulation.

4.3 Résultats

Les descripteurs moléculaires et les propriétés physique et chimique de la prednisone ont été présentés.

L'analyse par IRTF permet de démontrer une absorption d'eau sur la CMC. L'agrandissement des régions spectrales situées entre 1800 cm^{-1} et 1500 cm^{-1} permet d'observer une augmentation de l'AUC dans cette zone pouvant correspondre à l'adsorption d'eau sur la cellulose microcristalline.

La Figure 30 présente les spectres vibratoires de (A) la prednisone, (B) la cellulose microcristalline, (C) la cellulose microcristalline après 3 heures à 40 °C / 75 % HR, (D) le spectre du contenu d'une gélule de prednisone 5-mg immédiatement après fabrication, (E) le spectre du contenu d'une gélule de prednisone 5-mg après 18 mois de conservation à 25 °C / 60 % HR, (D) le spectre du contenu d'une gélule de prednisone 1-mg immédiatement après fabrication, (E) le spectre du contenu d'une gélule de prednisone 1-mg après 18 mois de conservation à 25 °C / 60 % HR.

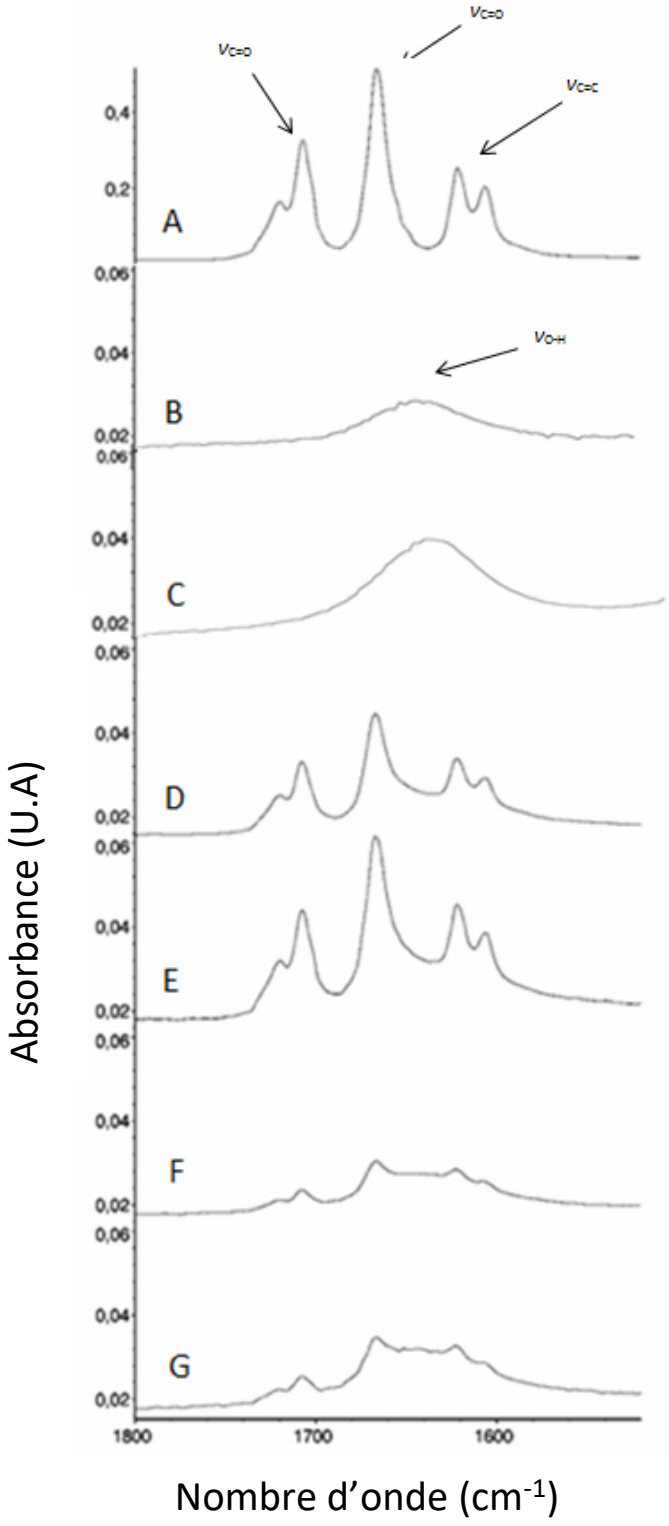


Figure 30 : agrandissement des régions spectrales situées entre 1800 cm^{-1} et 1500 cm^{-1}.

L'analyse des spectres obtenus par IRTF a mis en évidence (i) une région spectrale propre à la prednisone non masquée par la CMC, (ii) une absorption d'eau par la CMC en condition environnementale humide (40 °C / 75 % HR) et (iii) une légère altération de la région spectrale spécifique à la prednisone après plusieurs mois de conservation.

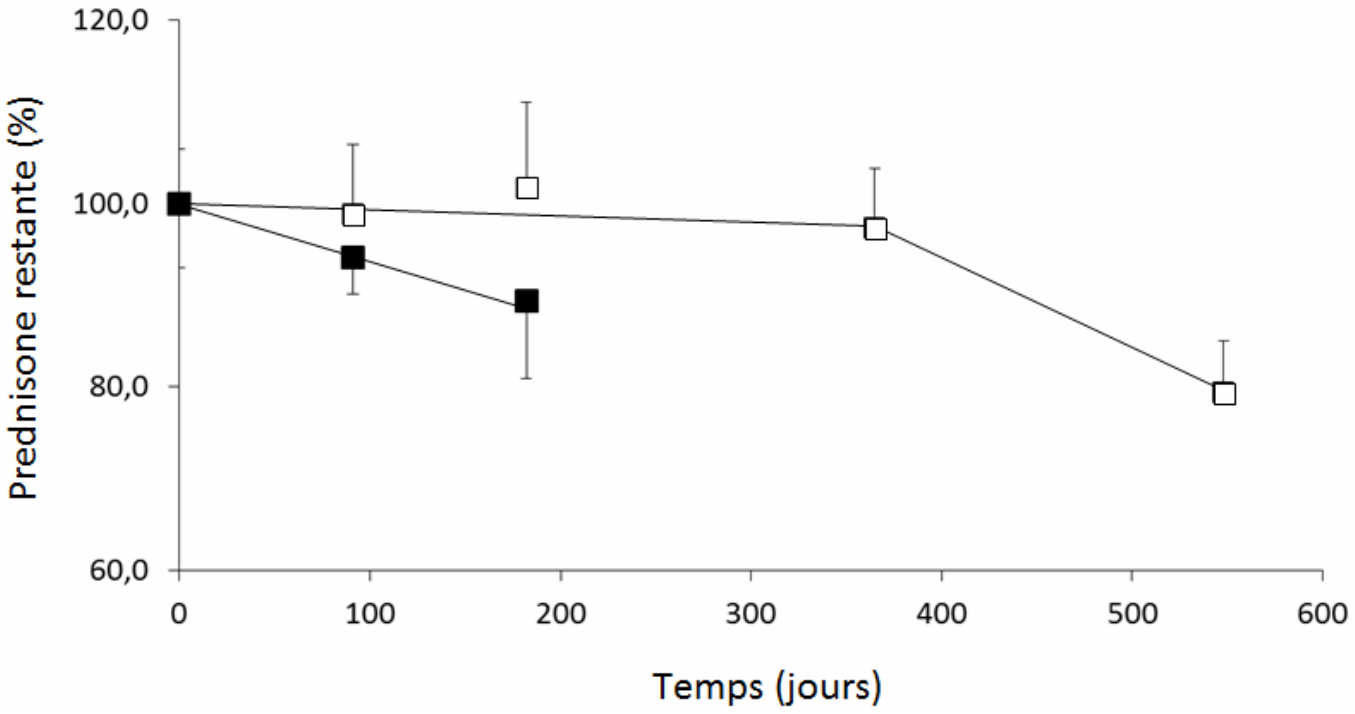


Figure 31 : profil de dégradation des gélules de prednisone 1-mg - CMC conservées à (□) 25 °C / 60 % HR et (■) 40 °C / 75 % HR. Chaque point est la moyenne ± écart type de N = 10 mesures.

Les profils de dégradation obtenus après analyses par HPLC-UV des gélules de prednisone 1-mg et 5-mg conservés dans différents environnements mettent en évidence une vitesse de dégradation différente selon l'intensité des contraintes environnementales appliquées et selon le rapport prednisone / CMC. En effet, très logiquement, plus les conditions de conservation sont fortes, plus rapide est la dégradation des principes actifs. La prednisone n'échappe pas à cette règle. De plus, plus la prednisone est diluée dans la CMC, plus sa cinétique de dégradation apparait rapide. Les résultats des profils de dégradation sont présentés en Figure 31 et Figure 32.

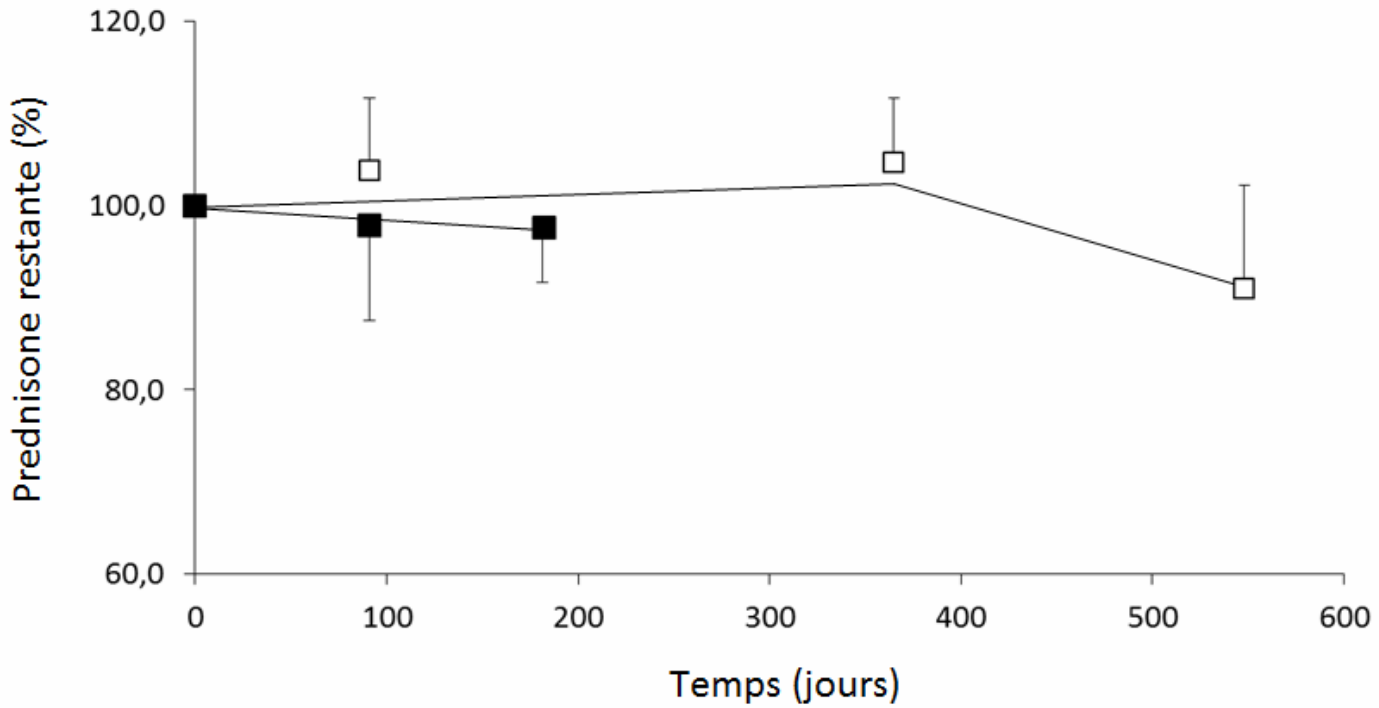


Figure 32 : profil de dégradation des gélules de prednisone 5-mg - CMC conservées à (□) 25 °C / 60 % HR et (■) 40 °C / 75 % HR. Chaque point est la moyenne ± écart type de N = 10 mesures.

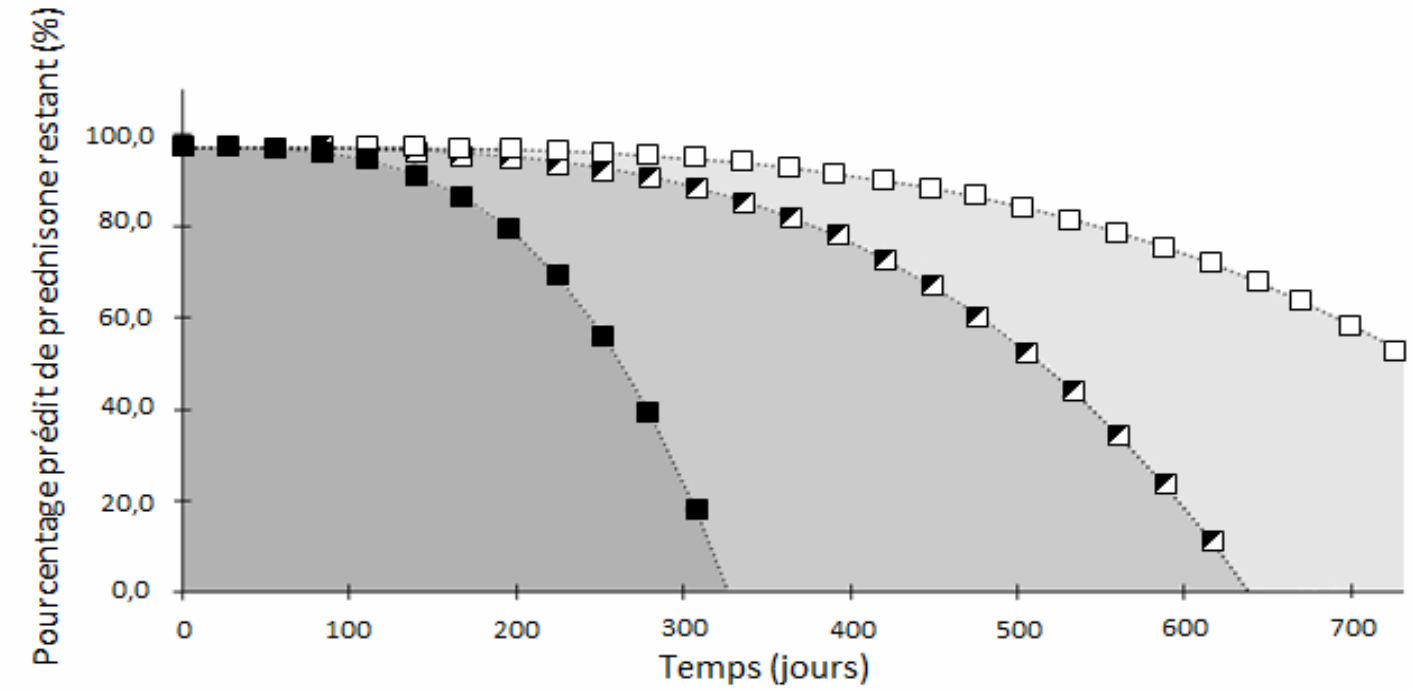


Figure 33 : profils cinétiques de dégradation des gélules de prednisone 1-mg. Le modèle le mieux corrélé aux données expérimentales a été choisi et extrapolé dans les conditions environnementales recommandées par la CIH : (□) 25 °C / 60 % HR; (◩) 30 °C / 65 % HR; et (■) 40 °C / 75 % HR. Les nuances de gris colorent les Aires Sous la Courbe (ASC) de chaque condition. Le gris foncé colore l'ASC de la condition 40 °C / 75 % HR, le gris intermédiaire l'ASC de 30 ° C / 65 % HR et le gris clair l'ASC de 25 °C / 60 % HR.

À partir des données expérimentales, le modèle le mieux corrélé a été choisi sur des paramètres statistiques de CIA, CIB et EQM. Le modèle cinétique le mieux corrélé aux données expérimentales de la prednisone 1 mg et 5 mg était le modèle à représentation lissée, avec N_2 > 1 et l'humidité portée en puissance, selon le Tableau 22. Cette représentation simule les réactions de nucléation des lois de puissance, JMAEK, ou auto-catalytique de Prout-Tompkins.

La représentation mathématique des cinétiques de dégradation a montré des différences de vitesse de réaction selon la concentration en prednisone dans la gélule. Les représentations graphiques sont présentées Figure 33 pour les gélules de prednisone 1-mg et Figure 34 pour les gélules de prednisone 5-mg.

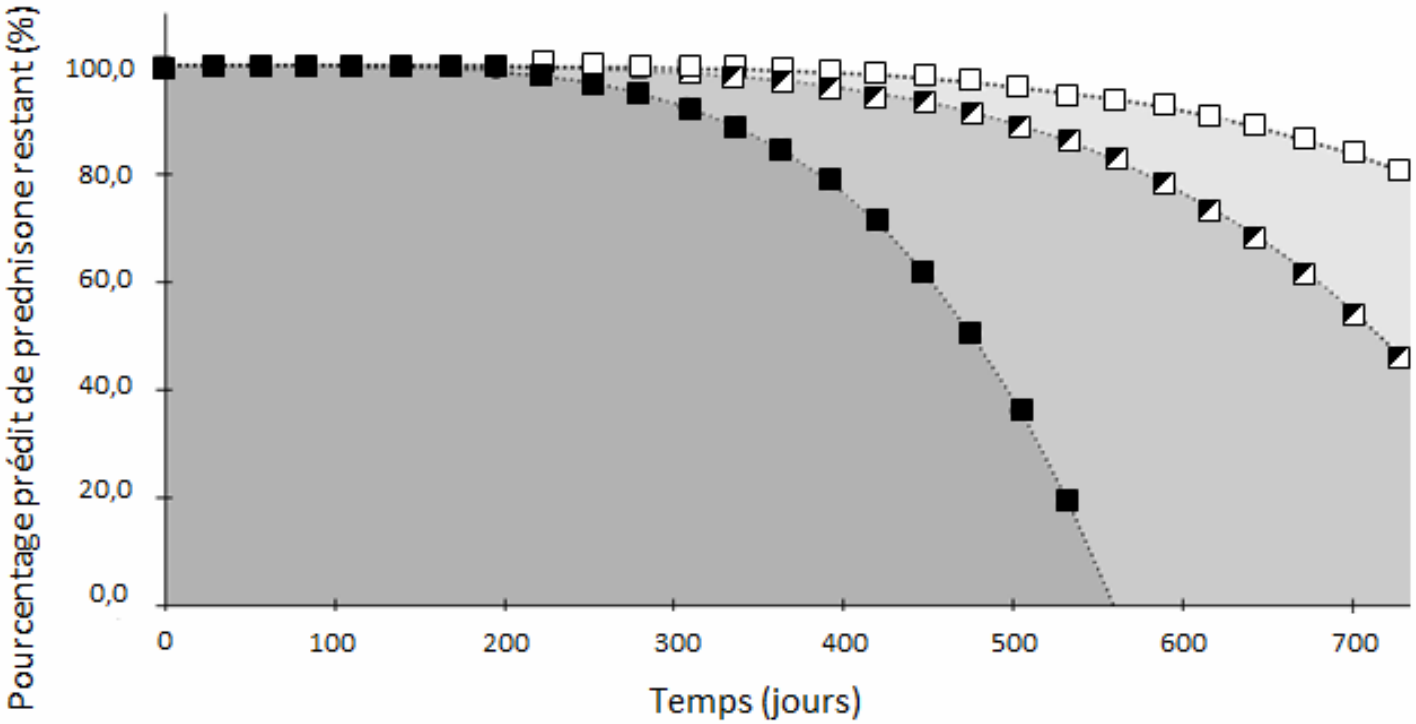


Figure 34: profils cinétiques de dégradation des gélules de prednisone 5-mg. Le modèle le mieux corrélé aux données expérimentales a été choisi et extrapolé dans les conditions environnementales recommandées par la CIH : (□) 25 °C / 60 % HR; (◩) 30 °C / 65 % HR; et (■) 40 °C / 75 % HR. Les nuances de gris colorent les Aires Sous la Courbe (ASC) de chaque condition. Le gris foncé colore l'ASC de la condition 40 °C / 75 % HR, le gris intermédiaire l'ASC de 30 ° C / 65 % HR et le gris clair l'ASC de 25 °C / 60 % HR.

Les représentations graphiques des cinétiques de dégradation montrent d'une part une première zone de latence quelle que soit la concentration de la gélule de prednisone suivi d'une

soudaine et brusque inflexion de la courbe témoignant d'une accélération de la vitesse de dégradation du PA. Plus la contrainte environnementale appliquée est intense, plus cette inflexion est précoce. De même, plus la prednisone est diluée dans la formule, plus l'inflexion est précoce. Ainsi, les données combinées des analyses IRTF et HPLC-UV des lots stockés dans les conditions ICH permettent de mettre en évidence les mécanismes de dégradation cinétique de la prednisone dans les gélules de 1-mg et 5-mg et d'attribuer une durée de conservation pour ces lots cliniques.

4.4 Conclusion

Ce second travail est également une analyse de la stabilité de deux formulations. Ces deux formulations sont constituées de la même molécule : prednisone micronisée, à deux dosages différents, 1-mg et 5-mg, dans un système bi-composants (prednisone – CMC). L'étude de stabilité a été réalisée selon la méthodologie recommandée par la CIH. Les ACQ définis étaient la stabilité chimique et physique des formulations. Les méthodes d'analyse étaient l'HPLC-UV et la spectroscopie vibratoire par IRTF.

Les deux formulations étaient très similaires : prednisone 1-mg ou 5-mg dans QSP 1 gélule de CMC. La prednisone était apportée sous forme d'un cristal polymorphe.

La prednisone est un anti-inflammatoire stéroïdien dont la structure est de type cyclopentanoperhydrophénanthrènique. Son ratio d'hydrogène donneur / hydrogène accepteur est largement positif. Elle possède dans sa structure 4 cycles (3 hexanes et un pentane), mais aucun de ceux-ci n'est aromatique. Possédant très peu de liaisons covalentes π et d'atomes polaires par rapport aux atomes apolaires, la molécule est très insoluble en milieux aqueux. Cette propriété est bien connue des galénistes et des pharmacocinéticiens ; la faible dissolution des comprimés de prednisone pouvant être un frein à l'absorption intestinale du PA [62].

L'étude de stabilité a été réalisée selon la méthodologie CIH Q1C [63]. Cette méthode de référence dans le développement pharmaceutique a été appliquée avec succès au cours de cette étude. L'évaluation des stabilités physiques et chimiques a été réalisée avec des lots de

gélules stockées dans des conditions environnementales de vieillissement normal et accéléré. Les gélules ont été analysées à des temps définis. Cette évaluation a permis de mettre en évidence (i) une stabilité des formulations sur une période de temps définie, et (ii) une durée pour laquelle ces formulations ne peuvent plus être considérées comme stables.

Les données expérimentales de stabilité chimique ont été confrontées aux modèles cinétiques de la méthode ESPA. Le modèle le mieux corrélé a été recherché pour chaque formulation. Ce modèle a permis de proposer un mécanisme de dégradation du PA. De plus, ce modèle a été extrapolé. L'extrapolation est purement informelle, le temps d'instabilité ayant été déjà atteint au cours de l'étude de stabilité.

Le modèle présentant la meilleure corrélation pour les deux formulations (1-mg et 5-mg) était le même : modèle lissé, N2 > 1 avec l'humidité en puissance. Ceci témoigne sans surprise d'un mécanisme de dégradation similaire pour les deux dosages de prednisone. Les coefficients N_2 obtenus étant proches de $N_2 \approx 4$. Par conséquent le mécanisme de dégradation pourrait être une nucléation en puissance, d'après les représentations graphiques des Figure 24 et Figure 25. Selon ce modèle, la décomposition chimique se fait en deux temps. Tout d'abord la germination de N nucléus. Ensuite, une croissance de chacun de ces N nucléus dans toutes les directions de l'espace. La résultante est une réaction latente, mais qui va s'accélérer lorsque les *nuclei* auront atteint une taille critique. L'inflexion des courbes cinétiques témoigne de cette accélération.

Malgré la similarité des profils de dégradation, la stabilité des deux formulations n'est pas identique. La formulation dont le ratio prednisone / CMC est le moins élevé reste stable moins longtemps. Cela témoigne de l'effet prépondérant que peut avoir l'environnement proche d'un PA sur sa stabilité. Ici, la prednisone est formulée dans la CMC. Cet excipient est connu pour capter l'eau environnementale [64] [65]. L'analyse spectroscopique de cette étude montre une augmentation de la surface du pic situé entre 3 000 et 3 500 cm^{-1} compatible avec une absorption d'eau par la CMC. En piégeant l'eau environnementale, la CMC pourrait favoriser la formation de poches d'eau favorisant l'altération physique ou l'hydrolyse chimique de la prednisone. Ce phénomène a également été objectivé lors de l'étude de stabilité des gélules d'amoxicilline présentée précédemment. Enfin, la CMC peut impacter la dissolution des PA formulés. Landin et Al. démontrent que la dissolution de comprimés de prednisone, diluée dans

la CMC, dépend de la teneur en lignine de cette dernière [66]. La lignine, un tanin du bois, peut être retrouvée comme impureté dans certaines CMC selon l'origine du bois à partir duquel est fabriqué l'excipient. Par son hydrophobicité, la lignine peut altérer la dissolution de la prednisone. Finalement, l'interaction entre PREDNISONE et CMC peut difficilement être considérée comme totalement neutre.

Afin de mieux qualifier et quantifier l'effet de la sorption d'eau dans la cellulose et de caractériser son impact sur la stabilité physique et chimique des PA, un complément d'imagerie par microscopie optique et une analyse radio-cristallographique seraient utiles. Ainsi, d'éventuelles poches d'eau pourraient être mises en évidence et mesurées. Leur impact sur les structures cristallines pourrait également être apprécié.

De plus, pour assurer une modélisation des cinétiques de dégradation chimique plus précise, il serait nécessaire d'augmenter le nombre de conditions environnementales appliquées et de points d'analyse. Les conditions environnementales proposées par la CIH et mises en œuvre dans ce travail permettent l'étude prospective de la stabilité des médicaments, mais sont insuffisantes pour assurer une modélisation suffisamment précise des cinétiques de dégradation des PA. Afin d'affiner les modèles, un design expérimental en losange serait nécessaire. Des conditions synergiques de température et humidité croissante : 25 ° C / 60 % HR ; 30 °C / 65 % HR ; 40 °C / 75 % HR et 60 °C / 80 % HR. Il faudrait également des conditions permettant de dissocier température et humidité : une gamme de température croissance couplée à une humidité faible, par exemple 25 °C / 25 % HR ; 40 ° C / 25 % HR et 60 °C 25 % HR, et enfin à l'inverse une gamme d'humidité croissance couplée à une température modérée : 25 °C / 30 % HR ; 25 °C / 50 % HR ; 25 °C / 70 % HR. Ainsi, les effets de la température et de l'humidité pourraient être quantifiés séparément. Une réponse quant à l'impact de l'eau environnementale dans la cinétique de dégradation de la prednisone.

La méthodologie CIH appliquée dans ce travail permet toutefois une évaluation prospective de la stabilité des préparations de prednisone 1-mg et 5-mg dans la CMC. L'analyse physique et chimique des gélules dans le temps, couplée à une modélisation de la cinétique de réaction apporte de nombreux éléments permettant la compréhension des mécanismes impliqués dans l'instabilité des formulations.

Article: Efficient resorting to tailor made pharmaceutical preparations needs fast stability prediction: application to the compounding of oral prednisone formulation.

European Journal of Hospital Pharmacist *soumis le 10 octobre 2020.*

EUROPEAN JOURNAL OF
HOSPITAL PHARMACY

Efficient resorting to tailor made pharmaceutical preparations needs fast stability prediction: application to the compounding of oral prednisone formulation

Journal:	*European Journal of Hospital Pharmacy*
Manuscript ID	Draft
Article Type:	Original research
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	MERIENNE, Camille; Hospices Civils de Lyon, Service Pharmaceutique, Plateforme FRIPHARM, Groupement Hospitalier Centre, Hôpital Edouard Herriot, Place d'Arsonval, F-69437 Lyon Cedex 03, France. DEMIR, Melis; Hospices Civils de Lyon, Service Pharmaceutique, Plateforme FRIPHARM, Groupement Hospitalier Centre, Hôpital Edouard Herriot, Place d'Arsonval, F-69437 Lyon Cedex 03, France. LAPRAS, Benjamine; Hospices Civils de Lyon, Service Pharmaceutique, Plateforme FRIPHARM, Groupement Hospitalier Centre, Hôpital Edouard Herriot, Place d'Arsonval, F-69437 Lyon Cedex 03, France. FILALI, Samira; Hospices Civils de Lyon, Service Pharmaceutique, Plateforme FRIPHARM, Groupement Hospitalier Centre, Hôpital Edouard Herriot, Place d'Arsonval, F-69437 Lyon Cedex 03, France. SALMON, Damien; Hospices Civils de Lyon, Pharmacie; UCBL, Laboratoire de Recherche et Développement de Pharmacie Galénique Industrielle, UMR 5305, Plateforme Fripharm, Faculté de Pharmacie, Université Claude Bernard Lyon 1, 8, avenue Rockefeller, F-69373 Lyon Cedex 08, France. PIVOT, Christine; Hospices Civils de Lyon, Service Pharmaceutique, Plateforme FRIPHARM, Groupement Hospitalier Centre, Hôpital Edouard Herriot, Place d'Arsonval, F-69437 Lyon Cedex 03, France. PIROT, Fabrice; Hospices Civils de Lyon, Service Pharmaceutique, Plateforme FRIPHARM, Groupement Hospitalier Centre, Hôpital Edouard Herriot, Place d'Arsonval, F-69437 Lyon Cedex 03, France.; UCBL, Laboratoire de Recherche et Développement de Pharmacie Galénique Industrielle, UMR 5305, Plateforme Fripharm, Faculté de Pharmacie, Université Claude Bernard Lyon 1, 8, avenue Rockefeller, F-69373 Lyon Cedex 08, France.
Keywords:	PHARMACEUTICAL PREPARATIONS, Chemistry, Pharmaceutical, Drug Compounding, Excipients, LABORATORIES, HOSPITAL, PHARMACY SERVICE, HOSPITAL

Efficient resorting to tailor made pharmaceutical preparations needs fast stability prediction: application to the compounding of oral prednisone formulation

Camille Merienne[1], Melis Demir[1], Benjamine Lapras[1], Samira Filali[1], Damien Salmon[1,2], Christine Pivot[1], Fabrice Pirot[1,2].

[1] Service Pharmaceutique, Plateforme FRIPHARM, Groupement Hospitalier Centre, Hôpital Edouard Herriot, Place d'Arsonval, F-69437 Lyon Cedex 03, France.

[2] Laboratoire de Recherche et Développement de Pharmacie Galénique Industrielle, *UMR 5305,* Plateforme Fripharm, Faculté de Pharmacie, Université Claude Bernard Lyon 1, 8, avenue Rockefeller, F-69373 Lyon Cedex 08, France.

***Corresponding Author:**

Dr. Camille Merienne, Pharm.D

Phone. + 33 04 72 11 11 20

Fax. + 33 04 72 11 78 76

E-mail. camille.merienne@chu-lyon.fr

Website: http://fripharm.com

Keywords: Drug disruption; prednisone; shelf-life; hospital pharmaceutical compounding; stability study

Words count: 2582

References count: 12

Confidential: For Review Only

ABSTRACT:

Objectives Recurrent drug shortage and SARS-Cov-2 pandemic jeopardize the medicine supply chain in hospital. Therefore, as an alternative to medicine discontinuation, hospital pharmacies may be requested for compounding a tailor-made preparation, involving an evaluation of long-term stability testing. This long-term evaluation is not compatible with the emergency context of sanitary crisis. The aim of this study was to apply a fast and predictive methodology to study the stability of 1-mg and 5-mg capsules of prednisone mixed with microcrystalline cellulose (MCC).

Methods Prednisone was compounded with MCC in oral hard capsules which were submitted to two environmental conditions. Long-term conditions (25 °C / 60% Relative Humidity (RH)) and accelerated conditions (40 °C / 75% RH). Chemical and physical stability of the formulation was evaluated by vibrational spectroscopy and high performance liquid chromatography for 6 and 18 months in accelerated aging and long-term storage conditions, respectively. Experimental time-profiles of prednisone content were fitted to pre-defined models of drug degradation to predict the shelf-life of the formulations.

Results HPLC-UV analysis of the prednisone formulations in both environmental conditions showed faster degradation in the 1-mg prednisone formulation associated with a marked infrared absorption between 3700 cm^{-1} - 3000 cm^{-1} and 1000 cm^{-1} - 500 cm^{-1} characteristic of water sorption by MCC. Prednisone degradation along time was successfully modeled. Both 1-mg and 5-mg prednisone dosage forms followed a kinetic degradation model which was suitable with a mechanism of nucleation. Shelf-life prediction was 7 and 10 months at 25 °C / 60 % RH for 1-mg and 5-mg prednisone formulations, respectively.

Conclusions The stability of 1-mg and 5-mg prednisone oral capsule diluted in MCC was evaluated by International Conference of Harmonization (ICH) methodology then modelled and finally predicted by accelerated predictive stability. Shorter shelf-life of lower prednisone loaded formulation was attributed to smaller ratio of active pharmaceutical ingredient to excipient known to favor water sorption into the blend.

Confidential: For Review Only

Key Messages:

Please find the article entitled "Efficient resorting to tailor made pharmaceutical preparations needs fast stability prediction: application to the compounding of oral prednisone formulation", that we submit for publication in European Journal of Hospital Pharmacy.

This article deals with the physicochemical characterization by vibrational spectrometry and chromatographic assays of prednisone 1 mg and 5 mg oral dosage forms, used in a clinical trial and submitted to accelerating ageing test. The stability data about prednisone is well known in literacy.

The study added kinetic modulization and prediction of both formulation stability. The profile of prednisone degradation as a function of time storage in climatic temperature/relative humidity chambers was successfully fitted to kinetic models of degradation running Accelerated Stability Assessment Program. There were some differences between the stability the two prednisone dosage forms due to the physical interaction between prednisone and excipients. At the outset, the prednisone instability was for a part explained from molecular descriptors and physical interaction with its environments which associated to kinetic modeling opens a window to the prediction of oral dosage form stability.

Confidential: For Review Only

INTRODUCTION

The SARS-Cov-2 pandemic challenges the medical product supply chain causing potential shortage of some critical active pharmaceutical ingredient (API). Therefore, with the agreement of the National Agency for Medicines and Health Product Safety and for a restricted period of time, hospital pharmacy might be solicited as final resorting to compound extemporaneously essential API (e.g. steroidal anti-inflammatory for critical care of patients). Briefly, the framework for the development of a new hospital compounding implies to appreciate the theoretical risk of API and oral dosage form instability through both analysis of feasibility and risk. Furthermore, complementary investigation has to be conducted according to the ICH guidelines[1]. In this procedure, oral dosage forms stored in controlled environment for temperature and relative humidity are assayed for their API content at predefined intervals of time in order to estimate the shelf life of pharmaceutical compounding. The shelf-life is reached when the API is degraded over 5 % or 10 %, depending on the guidelines. However, this stability analysis can last up to several months and is not compatible with short-times requirements of a sanitary crisis. The chemical stability of an API depends on physical and chemical structure of the API, excipients, packaging, and environmental conditions of storage. The stability may be predicted by Accelerated Predictive Stability (APS) and kinetic degradation modelling[2,3]. The use of a tool for stability prediction can allow the conciliation of long-times and short-times into the pharmaceutical development of new drugs formulations in hospital pharmacy. The need of a prednisone oral capsule formulation in a very short time was confronted to the analysis of feasibility and risk assessment implied to the development of a hospital pharmaceutical formulation according to the good preparation practices[4,5]. Thus, the main objective of the following study was to assess, model and predict the stability of 1-mg and 5-mg prednisone oral capsules.

Confidential: For Review Only

MATERIAL AND METHODS

Feasibility and risk assessment

Technical and regulatory analysis of feasibility and risk was done in accordance with the good preparation practices of medicinal product in healthcare establishments. The analysis of risk and feasibility for the preparation of prednisone 1-mg and 5-mg oral capsules is presented in supplemental table 1.

Molecular descriptors and physicochemical properties

Prednisone and MCC molecular descriptors and physicochemical properties collected from Pubchem® and Drugbank® online databases are shown in table 1.

Prednisone oral dosage forms

The 1-mg and 5-mg prednisone oral capsules were compounded according to the formulations presented in supplemental table 2. Prednisone used as API was provided by Inresa® (Bartenheim, France). The microcrystalline cellulose (MCC) was provided by Cooper® (Melun, France). The compounding consisted in a manual homogenization of prednisone and MCC powders in a mortar. Then, the blends were filled in 0,2-mL gelatin capsule with a hand operated capsule filling machine provided by LGA® (La Seyne-sur-Mer, France®). The capsules were provided by Cooper®, Melun, France. Prednisone 1-mg and 5-mg capsules were stocked by 25 units in 75-mL closed polypropylene jar.

Stability study conditions

The hard capsules were stored in climatic chambers (Meditest H1300 from Froilabo®). The chambers were regulated in temperature and relative humidity (RH) as recommended by the International Conference of Harmonization (ICH, 25 °C / 60 % RH and 40 °C / 75 % RH). The experimental design of the stability study is reported in supplemental table 3.

Multicomponent Infrared analysis

Confidential: For Review Only

A multicomponent infrared analysis was performed on the prednisone-microcrystalline cellulose (prednisone-MCC) mixture to investigate the physicochemical stability and the MCC water sorption. Attenuated Total Reflectance Fourier-Transformed Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) was used to analyze samples (3800 – 400 cm^{-1}, Nicolet®iS 50 FT-IR Spectrometer, ThermoScientific®, Thermo Nicolet Corp. ®, Waltham, MA, USA). ATR-FTIR spectrum of Individual components was recorded by a diamond crystal containing a standard deuterated triglycine sulfate detector (10-cm optical path, 32 scans with spectral resolution of 4 cm^{-1}). ATR-FTIR spectrum of 1-mg and 5-mg prednisone-MCC capsules content was recorded immediately after compounding then after 1, 3, 6, 12 and 18 months stored at 25 °C / 60% RH and after 1, 3, 6 months stored at 40 °C / 75% RH. Furthermore, MCC was stored for 3 hours in 40 °C / 75 % RH and compared with dried MCC and pure water. Omnic Spectra® software was used to analyze individual and multi-component spectra.

Stability-indicating HPLC-UV method

The amounts of prednisone in 1-mg and 5-mg oral dosage forms over analysis time were quantified by high performance liquid chromatography with ultra-violet detection (HPLC-UV). The HPLC-UV system was an Agilent Technology® HPLC Chain (Agilent® 1290 Infinity Quaternary LC System, Les Ulis, France). It was made up of a binary pump, an integrated vacuum degasser, a thermostated column compartment (25 °C), an autosampler and a diode array detector. A Luna® 3 µm C_{18} 100 Å, 150 x 4.6 mm LC Column (Phenomenex®, Torrance, USA) was used as stationary phase. An isocratic mobile phase containing water/acetonitrile (25/75, v/v) was used. Flow rate was set at 1 mL/min and the quantification wavelength was 254 nm. Injection volume was 20 µL. The analytical method was validated according to ICH, French Society of Pharmaceutical Science and Technology and GERPAC recommendations: linearity (R^2 =0.998), specificity, repeatability (1.35 %), reproducibility (2.56 %) and accuracy (0.29 %)[6,11]. All data were recorded using LC-solution software OpenLAB UHPLC (online & offline).

Degradation kinetic modelling

Prednisone 1-mg and 5-mg oral dosage forms underwent exposure to standard ICH temperature and humidity combinations (ICH, 25 °C / 60% RH and 40 °C / 75% RH) as part of stability studies,

Confidential: For Review Only

to assess degradation kinetic of prednisone compounded with MCC in a solid dispersion (drug-polymer two component system). Modifications of physicochemical properties and drug degradation were estimated from vibrational spectroscopy and chromatographic analysis as detailed in the previous sections. Profiles of prednisone content as a function of time were fitted to degradation kinetic models. Degradation rate models A and B, detailed in table 2, were fitted by using the statistical computing and graphic software "R"[7]. Models were evaluated through the Bayesian Information Criterion (BIC), the Akaike Information Criterion (AIC) and the Relative Mean Square Error (RMSE). The best fitted model was then used to predict the long-term degradation rate of both prednisone formulations over a period of 24 months, in three conditions of temperature and humidity (25 °C / 60 % RH and 30 °C / 65 % RH and 40 °C / 75 % RH)[1].

RESULTS

Infrared analysis of prednisone oral dosage forms

(A) ATR-FTIR spectra of prednisone, (B) MCC as individual components, 5-mg prednisone formulation (C) immediately after compounding and (D) after 18 months of storage at 25 °C / 60 % RH, 1-mg prednisone formulation (E) immediately after compounding and (F) after 18 months of storage at 25 °C / 60 % RH are presented in supplemental figure 1. An enlargement of vibrations between 1800 cm^{-1} and 1520 cm^{-1} of these spectra are presented figure 1. It allows identification of typical 1707 cm^{-1} and 1670 cm^{-1} absorption peaks characteristic of the carbonyl group ($\nu_{C=O}$) and 1623 cm^{-1} absorption peak characteristic of the nonaromatic carbon double bond ($\nu_{C=C}$) of the prednisone. The spectra showed no differences of the vibrations located among 1500 cm^{-1} and 1800 cm^{-1} between the spectra immediately after compounding (D0) and after 18 months (M18) of 1-mg and 5-mg prednisone formulation. However, after 18-month storage, an enhancement of the 3000 cm^{-1} and 3700 cm^{-1} band absorption was evidenced confirming water sorption into the prednisone-MCC mixture. The spectra of dry MCC and MCC stored in 40 °C / 75 % RH environment for 3 hours were compared to pure water (supplemental figure 2) spectrum characterized by broad bands at 3300 cm^{-1}, 1650 cm^{-1} and 400 cm^{-1}. MCC presented two distinct domains with strongly enhanced IR

Confidential: For Review Only

absorption between 3700 cm^{-1} - 3000 cm^{-1} and 1000 cm^{-1} - 500 cm^{-1}. Water adsorption onto MCC exposed to 40 °C / 75 % RH environment was noticed in 3300 cm^{-1}, 1650 cm^{-1} and 400 cm^{-1} absorption bands. In conclusion, the IRTF spectra showed a water sorption after 18 months storage of the capsules in climatic chambers. Thus, in supplemental figure 1, water absorption was noticed with an increased IR absorption at 3300 cm^{-1}, 1650 cm^{-1} and 400 cm^{-1} on the spectrum of (D) and (F), the two formulations exposed for 18 months in 60 % RH environment. Areas under the curves of 1800 cm^{-1} – 1500 cm^{-1} IR regions of (i) native, 18-months aged prednisone formulations, (ii) dry and wetted MCC are presented in supplemental figure 3, confirming to water sorption onto API-MCC mixtures.

Prednisone oral dosage forms degradation analysis by stability-indicating HPLC-UV method

Typical chromatograms of 1 mg and 5 mg prednisone-MCC mixtures obtained immediately after compounding and after 18 months at 25 °C / 60% RH are presented in supplemental figure 4. After 18 months, the chromatogram showed a slight diminution of the area under curve of the peak of prednisone (14 min). Therefore, the stability indicating HPLC-UV analysis showed a diminution of the prednisone content after 18 months at 25 °C / 60 % RH. Prednisone initial content (100 %) measured immediately after compounding was reduced in 1-mg and 5-mg drug formulation after 18 months storage (25 °C / 60% RH) by 20 % and 9 % respectively. Similarly, a drug content decrease of 8 % and 4.7 % was measured for the prednisone 1-mg and 5-mg capsules respectively after 6 months of storage in accelerated conditions (40 °C / 75 % RH). The percentage of remained prednisone over time of storage are presented in figures 2a and 2b. Profile of prednisone degradation showed a relatively stable beginning, but it ended with a rapid decrease of concentrations.

Degradation kinetic modelling

Profiles of 1-mg and 5-mg prednisone dosage forms submitted to particular temperature and humidity conditions were fitted to previous models of degradation rate as shown in table 2. Statistical analysis of experimental data fitted to those models included the calculation of rate constants, humidity, and temperature related exponents, as well as RMSE, BIC and AIC parameters (supplemental table 4). Rate of degradation of 1-mg prednisone was successfully

Confidential: For Review Only

fitted to the "B shaped model" characterized by lowest statistical values for RMSE, BIC and AIC (8.7, 77.6 and 85.8). Similarly, 5-mg prednisone was also best fitted to the "B shaped model" (RMSE, BIC and AIC values corresponding to 9.6, 71.9 and 80.5).

Shelf-life prediction of prednisone oral dosage forms

Degradation rate equations of 1-mg and 5-mg prednisone (*B shaped*) modeled from experimental data obtained in long-term and accelerated stability conditions as reported previously, were used for further shelf-life predictions of prednisone dosage forms in three ICH conditions of storage (25 °C / 60% RH, 30 °C / 65% RH and 40 °C / 75% RH) as shown in figures 3a and 3b. Hence, the shelf-life of dosage forms was determined as the necessary time to degrade 10 % of the initial prednisone content. It was found equal to 420 days and 168 days respectively in 25 °C / 60% RH and 40 °C / 75% RH conditions for the 1-mg prednisone dosage form whereas experimental shelf-life was equal to 450 days and 182 days in 25 °C / 60% RH and 40 °C / 75% RH conditions. Predicted shelf-life was of 644 days and 336 days for 5-mg prednisone in 25 °C / 60% RH and 40 °C / 75% RH conditions, respectively. The 5-mg prednisone content remained higher than 90% until the end of the prospective stability study (18 months in in 25 °C / 60% RH conditions and 182 days in 40 °C / 75% RH conditions).

DISCUSSION

The main objective of this study was to assess the stability of two bi-component mixtures of 1-mg and 5-mg prednisone-MCC filled in oral capsules. The capsules were stocked in long-term (18 months 25 °C / 60 % RH) and accelerated (6 months 40 °C / 75 % RH) storage as recommended by the ICH[1]. Concomitant physicochemical analysis of API and excipient was evaluated by vibrational spectroscopy and HPLC-UV assay. The kinetic degradation rate was successfully modelled according to the APS methodology. The shelf-lives of the formulations were successfully predicted, emphasizing a difference of stability between 1-mg and 5-mg formulations. The experimental shelf-life of the 1-mg formulation was 450 days while any significant decay of the API content was shown in the 5-mg formulation. The predicted shelf-life of the 1-mg formulation was 420 days, which was comparable to experimental determination, while a higher-shelf life of 5-mg form was predicted (644 days). These discrepancies were

Confidential: For Review Only

assumed to be related to the mass ratio between API (prednisone) and excipient used as diluent (MCC) in 1-mg (1.5 %) and 5-mg (7.0 %) prednisone formulation. The MCC, showing high water sorption capability related to its grinding and specific surface[8], favored water-API interaction, which was evidenced after 18 months of long-term storage, in both formulations, by IRTF spectrometry. Thus, higher API concentration would have a protective effect against its own degradation. Physicochemical changes induced by the water sorption consecutive to the high ratio of MCC potentiated the chemical degradation pathways of the prednisone. Despite this difference, the best fitted kinetic models were the same for both formulations: the "B shaped" model. This model described a nucleation mechanism of degradation, emphasized by the power law. In this kinetic equation, the degradation starts with latency, then underwent a sudden acceleration. This pathway was observed during the stability study of both formulations. Consequently, the kinetic pathway was successfully modeled but needs to be improved. To refine the prednisone kinetic degradation model deriving from the classical solid-state kinetic models, the accelerated conditions should have been done with more than two environmental conditions for an accurate deconvolution of the temperature and humidity importance as regard to degradation[10]. In the present reports, the stability study was sufficient to evaluate the shelf-lives of both prednisone formulations. Prednisone, a synthetic steroid, has a physical structure that shows crystal polymorphism. Its ratio hydrogen donor/acceptor is positive. It has four cycles in its chemical structure, but no one is aromatic. With few π bonds and polar atoms, the molecule is practically insoluble in water. This property is well-known and leads to a very low bioavailability of oral prednisone which can slow down its intestinal absorption[9]. These physical and chemical properties are assumed to be linked to the degradation pathways, mechanism and kinetic. To understand their individual impact, a comparison with other molecules and their kinetic can be done. Thus, the table 3 and the supplemental table 5 presents a comparison of molecular descriptors, physical properties, degradation kinetic profiles and shelf-lives predictions of prednisone (present study) and amoxicillin trihydrate, determined in earlier study[12]. Briefly, the amoxicillin trihydrate and the prednisone had a zero-order and a power law nucleation kinetic model of degradation, respectively. Strong lipophilicity and crystalline structure of prednisone could prevent water sorption and delay the potential

Confidential: For Review Only

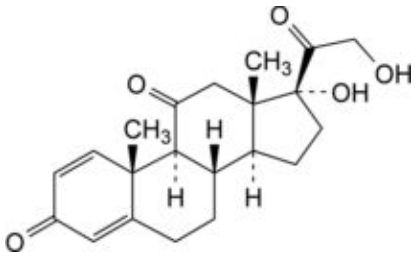
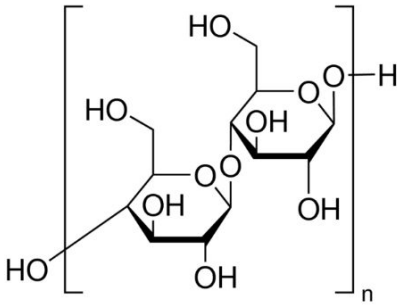
physical and chemical degradation. However, although amoxicillin trihydrate also presents a crystalline structure, a zero-order kinetic degradation was demonstrated. Therefore, the relationship between hydrophilic/lipophilic properties and crystalline structure of API upon the profile and kinetic of degradation has to be confirmed or denied.

CONCLUSION

During pandemic crisis, fast development of drugs, including formulation and stability analysis is mandatory. Therefore, in this purpose we compounded a minimal binary blended API and excipient mixture filled in oral hard capsules. This blend was then analyzed by vibrational spectroscopy and finally assayed by HPLC-UV for drug content. As a result convenient shelf-life was predicted and characterized from API-excipient-water interaction. In conclusion, we proposed a methodology based on a triad with (i) minimal compounding, (ii) API and excipient analysis and (iii) prediction of shelf life.

Confidential: For Review Only

Table 1: Molecular descriptors and physicochemical properties of prednisone and MCC.

Physicochemical parameters	Prednisone	Microcrystalline cellulose
Formula		
CAS number*	53-03-2	9004-34-6
Molecular mass (g/mol)*	358.4	370.35
Hydrogen acceptor count*	5	11
Hydrogen donor count*	2	6
Polar surface area ($Å^2$)**	91.67	168
Heavy atom count*	26	25
Rotatable bound*	2	6
Number of rings**	4	2
Water solubility (mg/mL) at 25°C*	0.07754	Insoluble
LogP*	1.46	-4.2

*Estimated from PubChem®

**Estimated from DrugBank®.

Confidential: For Review Only

Table 2: Mathematical Models used for fitting experimental data of prednisone degradation in normal and accelerated environmental conditions.

Kinetic models		**Formulas**
Linear	Humidity as factor (A)	$\alpha(t) = \alpha(0) + K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).\exp(H.N_1).t$
	Humidity as power (B)	$\alpha(t) = \alpha(0) + K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).H^{N_1}.t$
Shaped	Humidity as factor (A)	$\alpha(t) = \alpha(0) + K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).\exp(H.N_1).t^{N_2}$
	Humidity as power (B)	$\alpha(t) = \alpha(0) + K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).H^{N_1}.t^{N_2}$
Accelerating	Humidity as factor (A)	$\alpha(t) = \alpha(0).\exp\ (K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).\exp(H.N_1).t)$
	Humidity as power (B)	$\alpha(t) = \alpha(0).\exp\ (K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).H^{N_1}.t)$
Decelerating	Humidity as factor (A)	$\alpha(t) = \alpha(0) + K3.(1 - \exp(-K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).\exp(H.N_1).t))$
	Humidity as power (B)	$\alpha(t) = \alpha(0) + K3.(1 - \exp(-K1.\exp\left(\frac{-K2}{T}\right).H^{N_1}.t))$

α is the extent of the reaction. t is the time. K1, K2 and K3 are respectively the fitted frequency factor, activation energy divided by R and asymptotic limit of the degradant at t = ∞. H is the humidity descriptor and T is the temperature (Kelvin). N1 is the fitted exponent on humidity and N2 is the fitted shape parameter.

Confidential: For Review Only

Table 3: Experimental and predicted shelf life of 1-mg and 5-mg prednisone (days) at the two environmental conditions of the study (25 °C / 60% and 40 °C / 75 % RH).

Dosage forms	**Storage conditions**	
	25 °C / 60 % RH	**40 °C / 75 % RH**
1-mg prednisone shelf life (days)		
Experimental	450	182
Predicted	420	168
5-mg prednisone shelf life (days)		
Experimental	-	-
Predicted	644	336
5-mg amoxicillin shelf life (days)		
Predicted	250	90

Confidential: For Review Only

1. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Stability testing of new drug substances and products Q1A(R2). Tripartite International Conference on Harmonization (ICH) text, ICH Tech coordination, London, 1994.
2. Clancy D, Hodnett N, Orr R, Owen M, Peterson J. Kinetic Model Development for Accelerated Stability Studies. Am Assoc Pharm Sci PharmSciTech. 2017 May 1;18(4):1158–76. https://doi.org/10.1208/s12249-016-0565-4
3. Waterman KC. The application of the Accelerated Stability Assessment Program (ASAP) to quality by design (QbD) for drug product stability. AAPS PharmSciTech. 2011 Sep;12(3):932–7. https://doi.org/10.1208/s12249-011-9657-3
4. Bonnes Pratiques de Préparation. AFSSAPS 2007. https://www.ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/a5d6ae4b3d5fdee013ca463462b7b296.pdf. Assessed 25 May 2020.
5. Bocquet F, Degrassat-Théas A, Peigné J, Paubel P. The new regulatory tools of the 2016 Health Law to fight drug shortages in France. Health Policy. 2017 May 1;121(5):471–6. https://doi.org/10.1016/j.healthpol.2017.03.007
6. Hubert Ph, Nguyen-Huu J-J, Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, Cohen N, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. J Pharm Biomed Anal. 2007 Sep;45(1):70–81. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.06.013
7. R Development Core Team (2005). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL: http://www.R-project.org.
8. Fielden KE, Newton JM, O'Brien P, Rowe RC. Thermal studies on the interaction of water and microcrystalline cellulose. J Pharm Pharmacol. 1988 Oct;40(10):674–8. https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1988.tb06993.x
9. Awa K, Shinzawa H, Ozaki Y. The Effect of Microcrystalline Cellulose Crystallinity on the Hydrophilic Property of Tablets and the Hydrolysis of Acetylsalicylic Acid as Active Pharmaceutical Ingredient Inside Tablets. Am Assoc Pharm Sci PharmSciTech. 2015 Aug 1;16(4):865–70. https://doi.org/10.1208/s12249-014-0276-7

Confidential: For Review Only

10. Qiu F, Scrivens G. Accelerated Predictive Stability Chap 4. Accelerated Predictive Stability (APS) pp76-103 (Elsevier, 2018).
11. Sautou V, Brossard D, Chedru-Legros V, Crauste-Manciet S, Lagarce F, Odou P (2013). Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations. SFPC and GERPAC, 75.
12. Merienne C, Marchand C, Filali S, Salmon D, Pivot C, Pirot F. Measurement, analysis and prediction of amoxicillin oral dose stability from integrated molecular descriptor approach and accelerated predictive stability (APS). Pharm Technol Hosp Pharm 2020; 1-9; https://doi.org/10.1515/pthp-2020-0009

Confidential: For Review Only

Legends

Figure 1: Enlargement of vibrations between 1800 cm^{-1} and 1520 cm^{-1} of (A) prednisone, (B) MCC as individual components, (C) MCC after 3 hours at 40 °C / 75 % RH, (D) 5-mg prednisone formulation immediately after compounding, (E) after 18 months of storage at 25 °C / 60 % RH, (F) 1-mg prednisone formulation immediately after compounding, (G) after 18 months of storage at 25 °C / 60 % RH.

Figure 2: (a) Degradation profiles of 1-mg prednisone dosage forms stored at (☐) 25°C / 60 % RH; and (■) 40°C / 75% RH, (b) Degradation profiles of 5-mg prednisone dosage forms stored at (☐) 25°C / 60 % RH; and (■) 40°C / 75% RH.

Figure 3: (a) Predicted degradation profiles of 1-mg prednisone dosage forms stored at (☐) 25 °C / 60 % RH; (◪) 30 °C / 65 % RH; and (■) 40 °C / 75 % RH, (b) Predicted degradation profiles of 5-mg prednisone dosage forms stored at (☐) 25 °C / 60 % RH; (◪) 30 °C / 65 % RH; and (■) 40 °C / 75 % RH.

Confidential: For Review Only

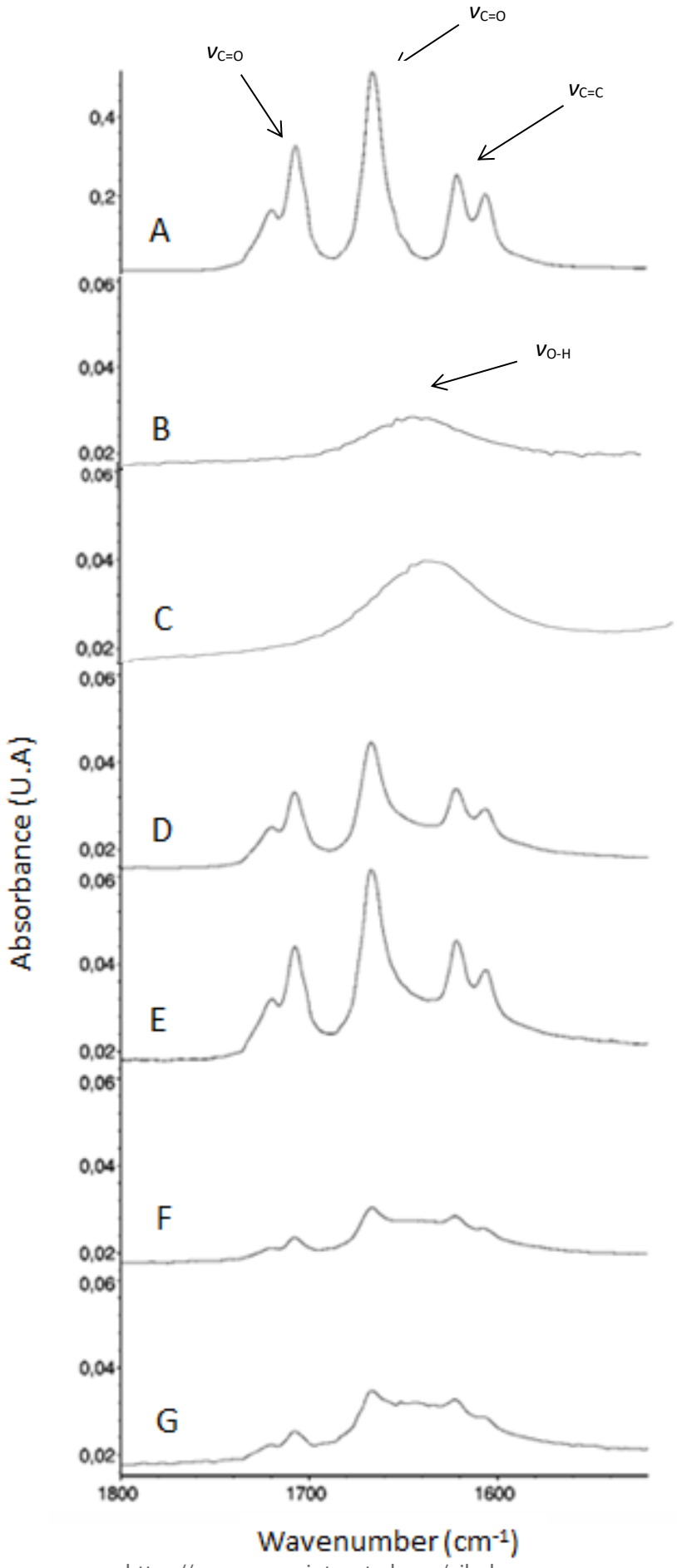

νC=O
νC=O
νC=C
νO-H
A
B
C
D
E
F
G
0,4
0,2
0,06
0,04
0,02
Absorbance (U.A)
1800
1700
1600
Wavenumber (cm-1)

Figure 1

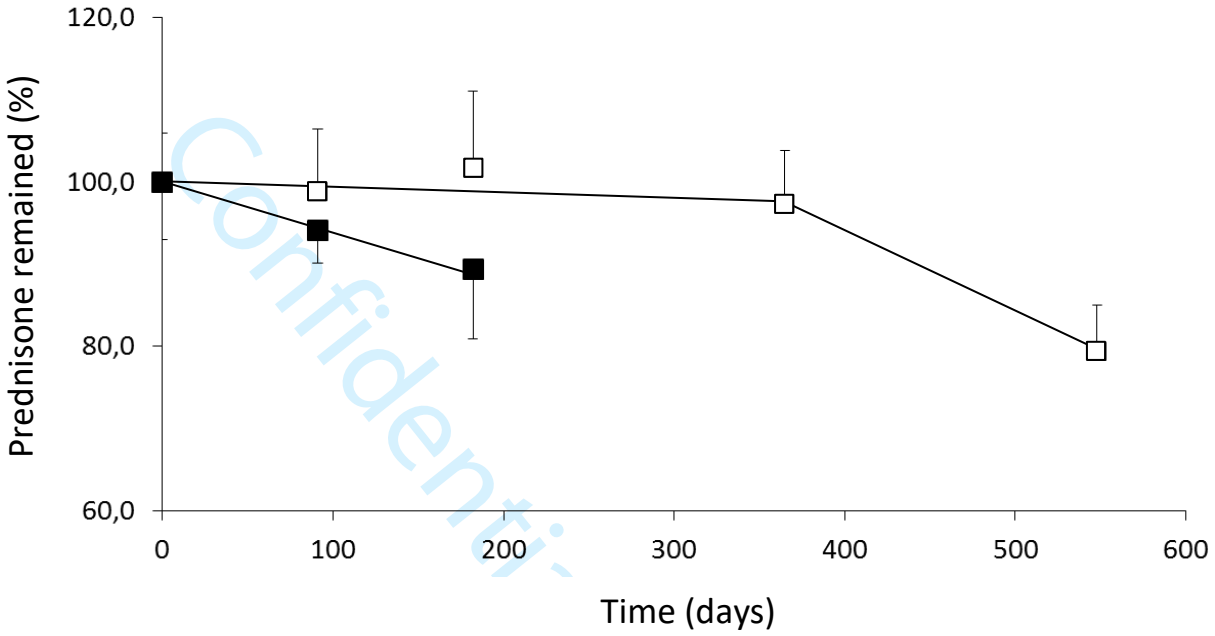


Figure 2a

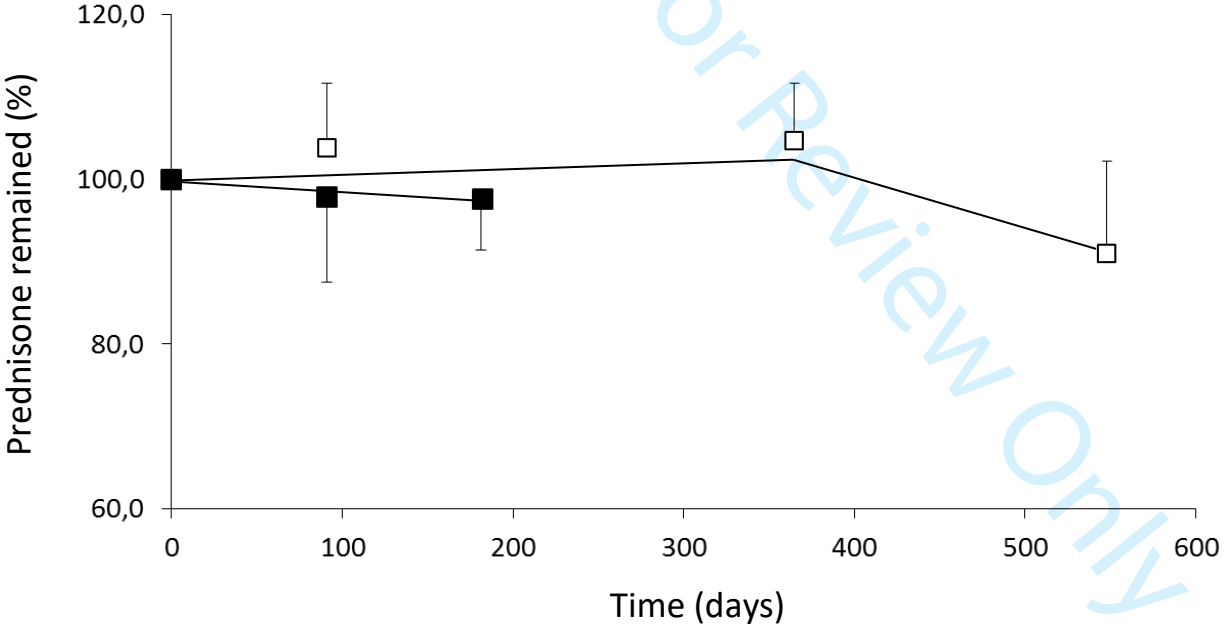


Figure 2b

Confidential - For Review Only

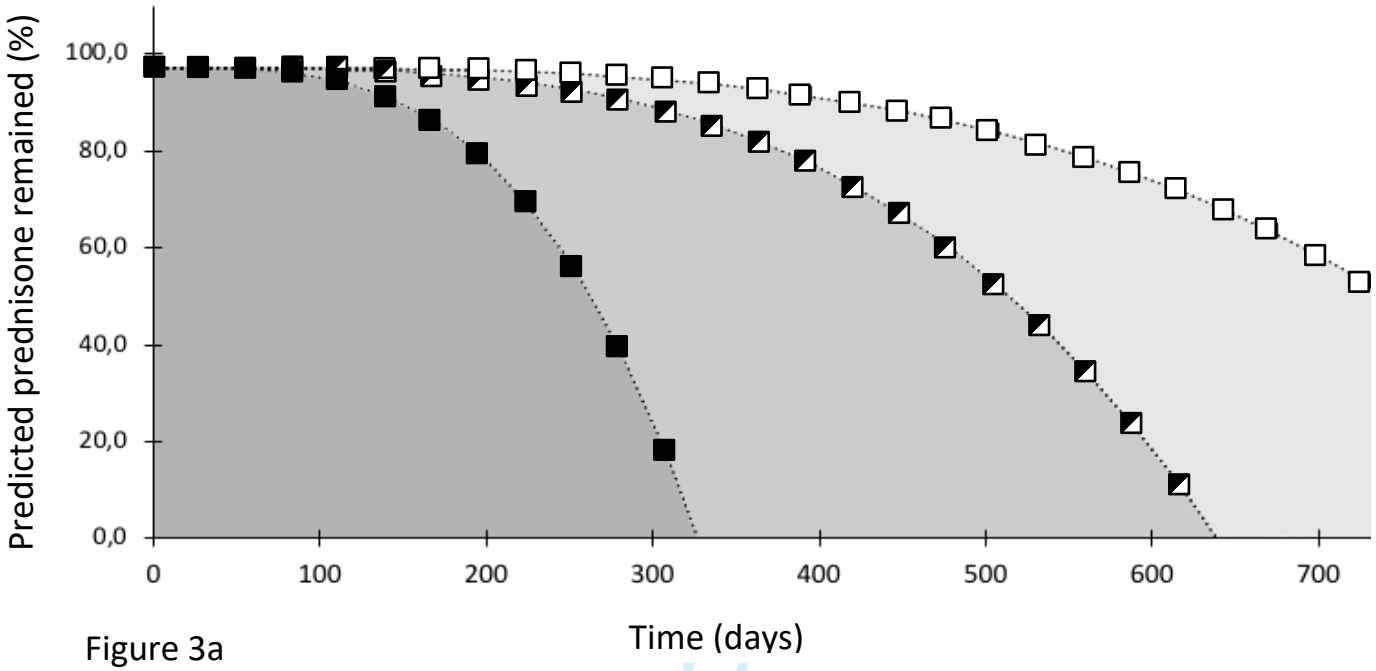


Figure 3a

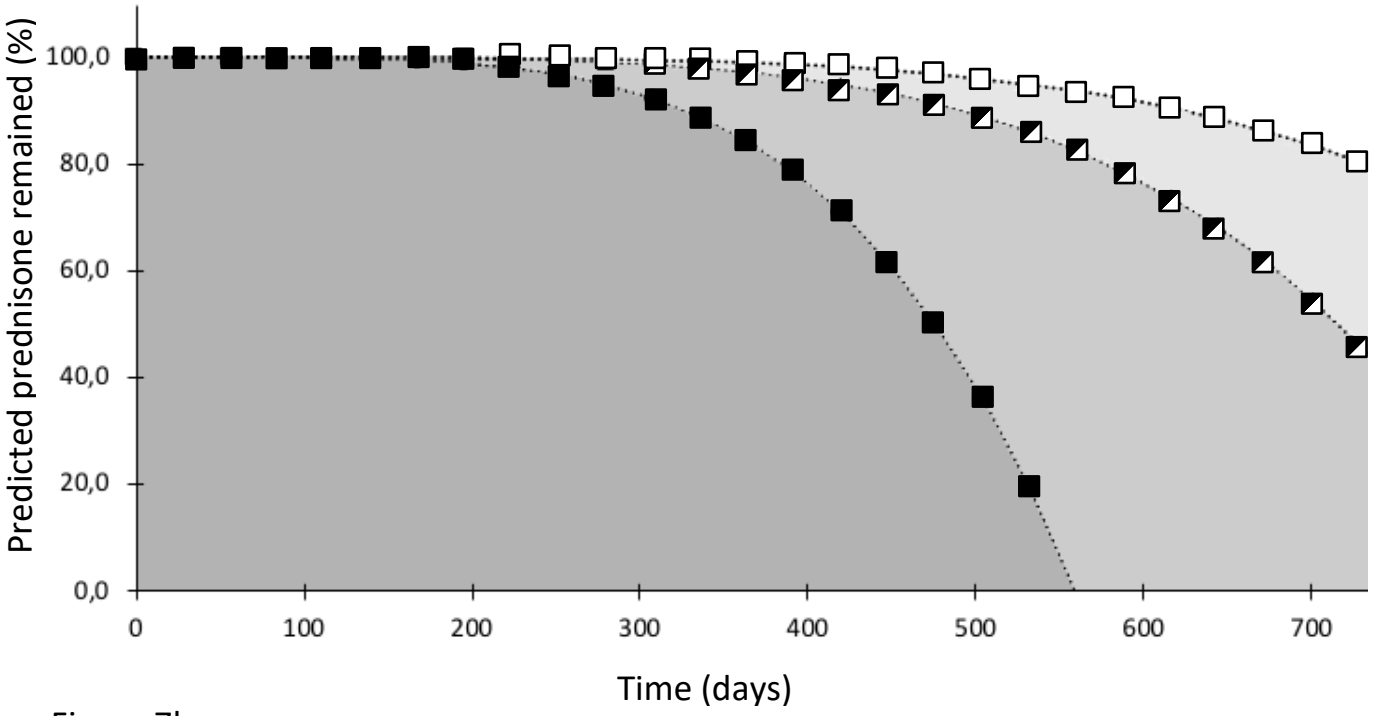


Figure 7b

Legends

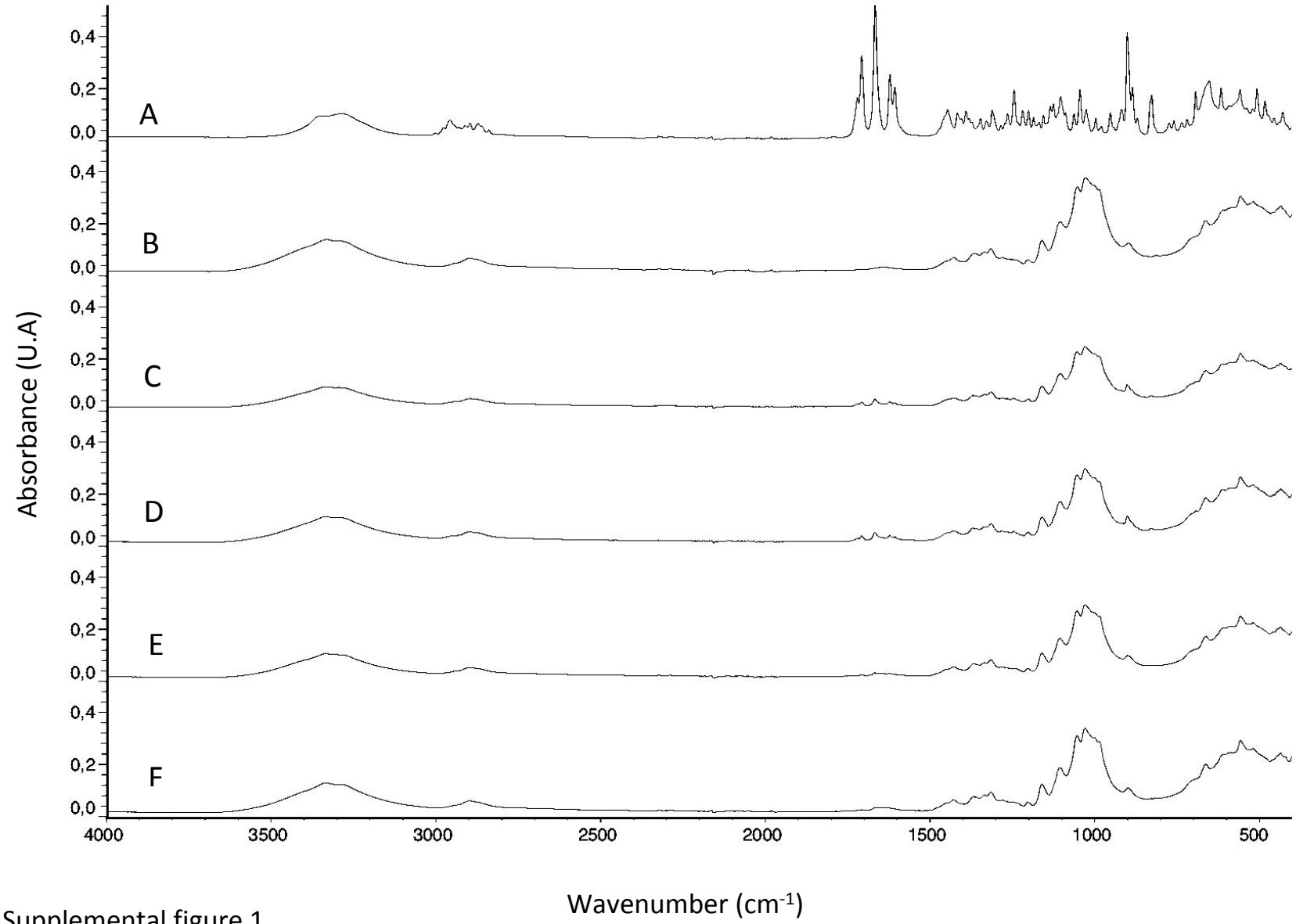
Supplemental figure 1: ATR-FTIR spectra of (A) prednisone, (B) MCC as individual components, (C) formulation of 5-mg prednisone: mixture of 5 mg prednisone and MCC immediately after compounding, (D) formulation of 5-mg prednisone: mixture of 5 mg prednisone and MCC after 18 months of storage at 25 °C / 60 % RH, (E) formulation of 1-mg prednisone: mixture of 1 mg prednisone and MCC immediately after compounding, (F) formulation of 1-mg prednisone: mixture of 1-mg prednisone and MCC after 18 months of storage at 25 °C / 60 % RH.

Supplemental figure 2: ATR-FTIR spectra of (A) Water, (B) MCC immediately after collection, (C) MCC stored in an uncapped jar for 3 hours in climatic chambers at 40°C / 75% RH.

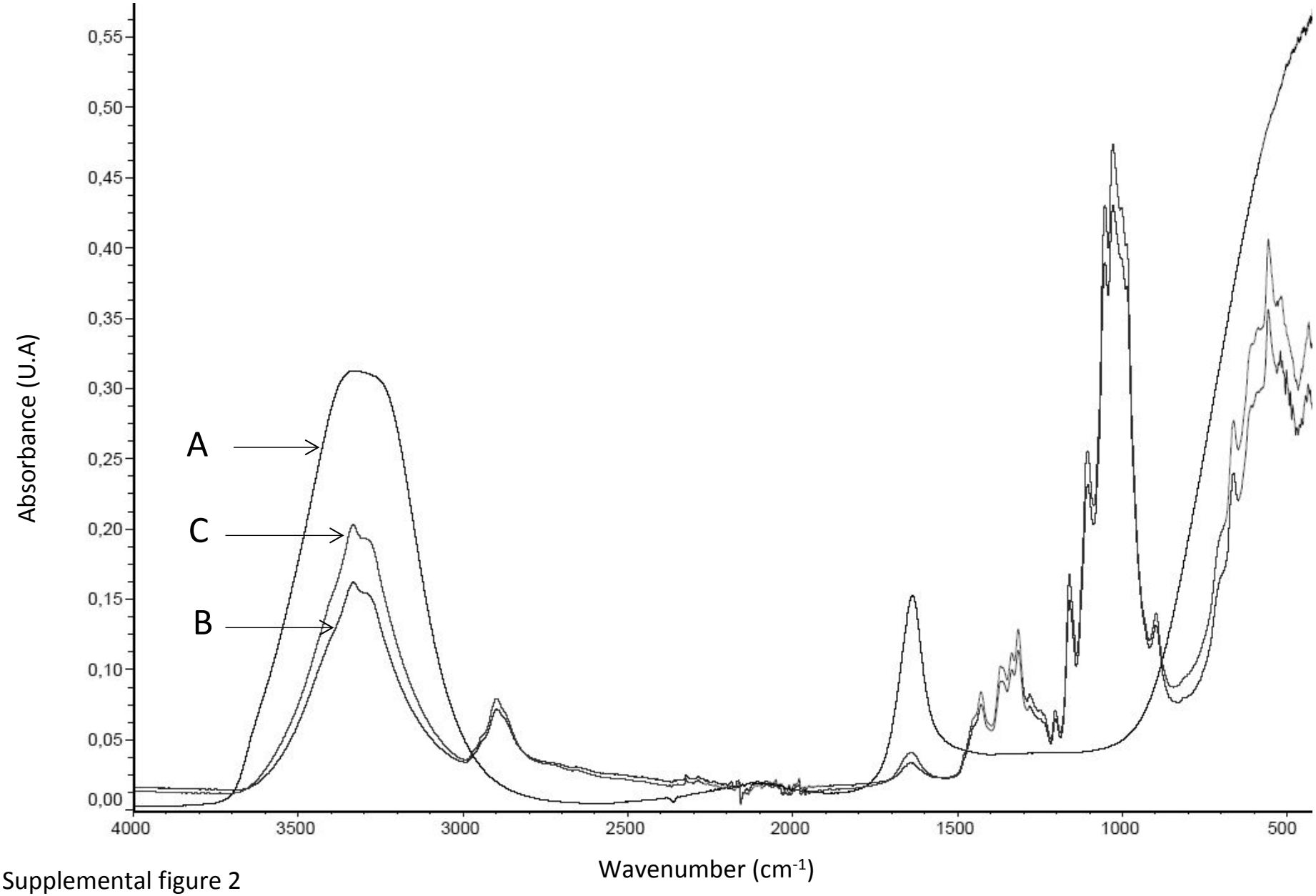
Supplemental figure 3: Comparison of 1800 cm^{-1} – 1500 cm^{-1} region area of ATR-FTIR spectra of 1-mg and 5-mg prednisone formulation and MCC recorded (□) immediately after compounding, (■) after 18 months at 25 °C / 60 % RH and (■) after 3 hours (H3) at 40 °C / 75 % RH.

Supplemental figure 4: HPLC-UV chromatograms of (A, B) 1-mg prednisone formulation immediately after compounding and after 18 months of storage at 25 °C / 60 % RH (C, D) 5-mg prednisone formulation immediately after compounding and 18 months of storage at 25 °C / 60 % RH.

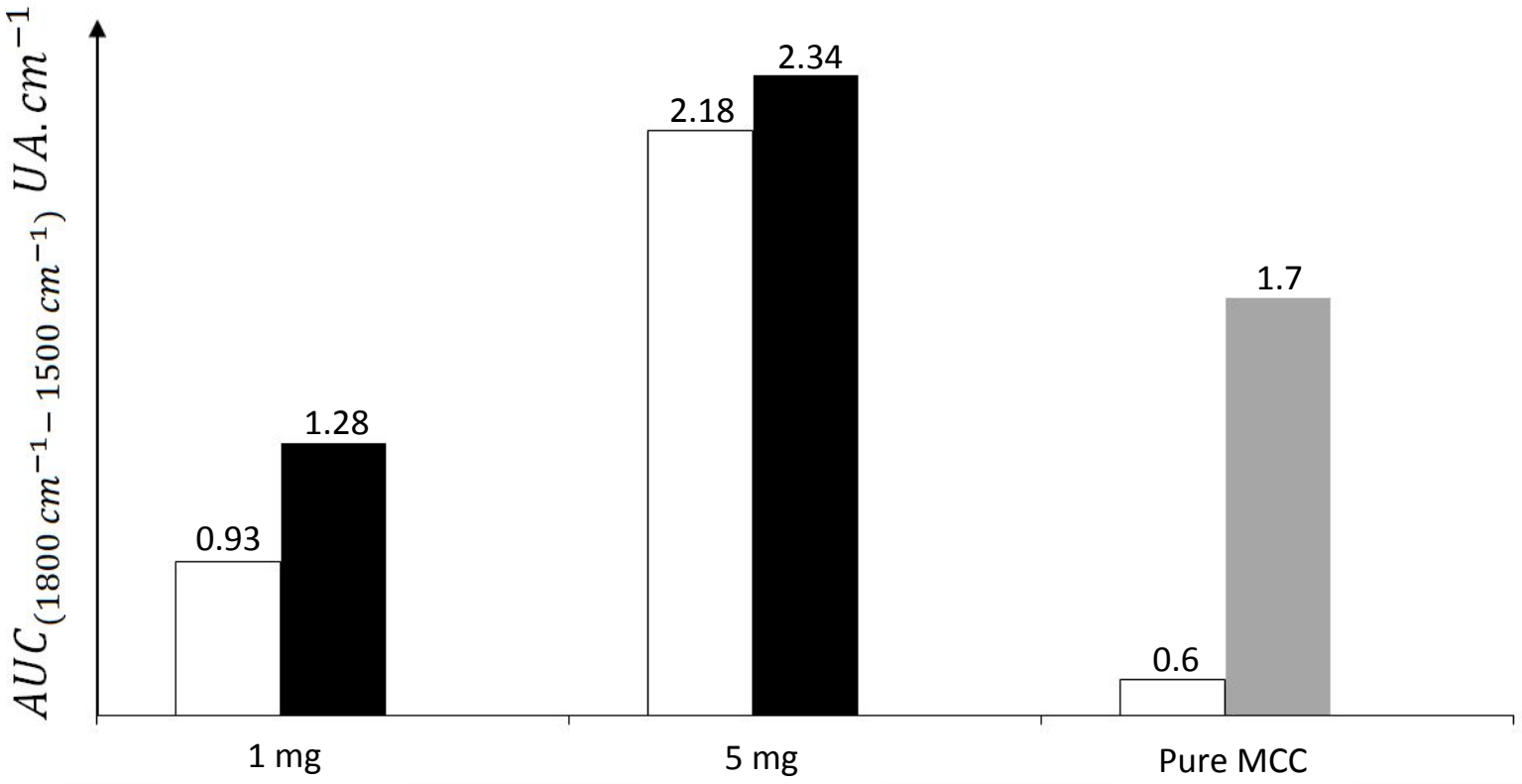
Confidential: For Review Only



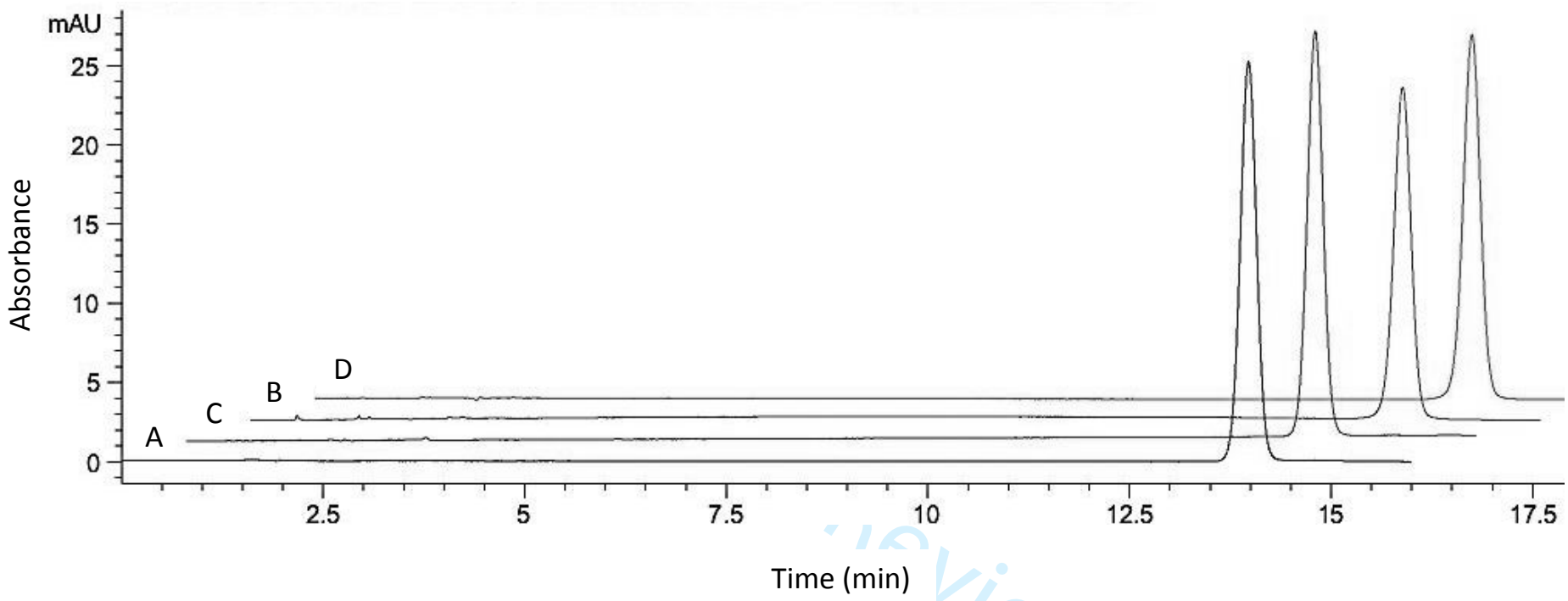
Supplemental figure 1



Supplemental figure 2



Supplemental figure 3



Supplemental figure 4

Supplemental table 1: feasibility and risk analysis of the 1-mg and 5-mg prednisone capsules

Description and composition	
Nomenclature	1-mg Prednisone 5-mg Prednisone
Active Pharmaceutical Ingredient (API)	Prednisone
Dosage	1-mg 5-mg
Excipient	Microcrystalline cellulose
Container and closure system	Polypropylene jar
Pharmaceutical form	Oral capsules
Population targeted	> 2 years-old
Administration route	Oral
Anatomical therapeutic chemical	H02AB07
Interest	
Licensed medicine available	Yes
Reason of the preparation	Shortage supply Clinical trial (active and placebo)
Compounding requested	Yes
Category of risk	Risk 2*
Technical feasibility part 1 : Premises and Equipment	
Premises located, designed, constructed, adapted and maintained to suit the operations to be carried out	Yes
Equipment located, designed, constructed, adapted and maintained to suit the operations to be carried out	Yes
Suitable pharmaceutical quality system, procedures and standard operative procedures for active substances uses as starting materials and manufacturing process	Yes
Qualified personnel	Yes
Technical feasibility part 2: Formulation	
API sources	Compliant
Manufacturing process	Compliant
Compatibility data manufacturing process	Not applicable
Stability data	Evaluation requested

*According to the good preparation practices

Confidential: For Review Only

Supplemental table 2: Composition of prednisone-based formulations compounded in the present study.

Oral dose forms	
1-mg formulation	
Prednisone (mg)	1
MCC (mg)	73
Ratio prednisone/MCC (%)	*1.4 %*
5-mg formulation	
Prednisone (mg)	5
MCC (mg)	72
Ratio Prednisone/MCC (%)	*6.9 %*

Confidential: For Review Only

Supplemental table 3: Experimental design of 1-mg and 5-mg prednisone formulations study. Storage in ICH conditions and time of storage. RH: Relative Humidity (%), D: Days.

Storage conditions	**Time of storage (days)**	
	1-mg formulation	5-mg formulation
25 ± 2°C, 60 ± 5 % RH (ICH)	0 ; 30 ; 91 ; 182 ; 365 ; 487 ; 548	0 ; 30 ; 91 ; 182 ; 365 ; 487 ; 548
40 ± 2 °C, 75 ± 5 % RH (ICH)	0 ; 30 ; 91 ; 182	0 ; 30 ; 91 ; 182

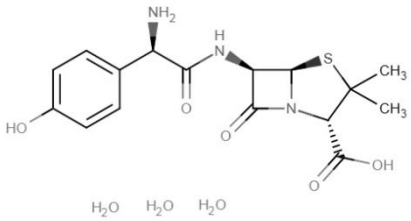
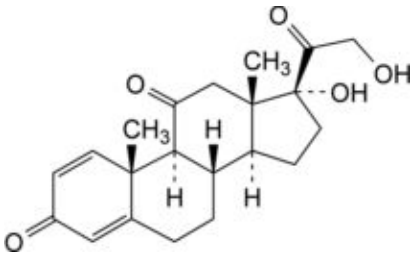
Confidential: For Review Only

Supplemental table 4: Modelling parameters calculated with "R" software.

Models	Formulation	Best fitting parameters							
		- 10^3• K1	**10^{-3} • K2**	**K3**	**N1**	**N2**	**RMSE**	**BIC**	**AIC**
A linear	1-mg	5.8	3.8	-	2.6	-	8.6	85.9	90.2
	5-mg	27.0	1.9	-	-1.2	-	14.5	76.6	81.3
A shaped	1-mg	2104.4	13.2	-	1.3	2.2	10.2	80.3	88.4
	5-mg	3048.2	17.1	-	3.3	4.5	15.3	72.0	80.6
A decelerated	1-mg	0.7	3.7	3.7	2.9	-	25.5	82.0	90.2
	5-mg	7.7	3.6	0.04	-0.009	-	36.7	74.9	83.5
A accelerated	1-mg	4350.3	3.4	-	3.7	-	9.2	87.8	92.1
	5-mg	2166.6	-9.7	-	13.0	-	14.5	107.8	112.5
B linear	1-mg	354.3	-2.0	-	6.2	-	8.9	116.1	120.5
	5-mg	96.1	7.5	-	5.7	-	14.4	76.4	81.1
B shaped	1-mg	6277.2	5.9	-	11,1	3.3	8.7	77.6	85.8
	5-mg	1110.9	-9.8	-	19.5	4.3	9.6	71.9	80.5
B decelerated	1-mg	27.4	-1.3	3.3	3.7	-	9.6	80.2	88.3
	5-mg	5.8	4.0	0.5	-0.2	-	9.9	75.0	83.6
B accelerated	1-mg	0.6	5.8	-	1.0	-	8.9	83.2	87.5
	5-mg	0.1	-0.6	-	0.4	-	14.6	77.6	82.3

Confidential: For Review Only

Supplemental table 5: Molecular descriptors, physicochemical properties, and mechanism of degradation of prednisone formulations and amoxicillin trihydrate formulation.

Physicochemical parameters	**Amoxicillin trihydrate**	**Prednisone**
Formula		
CAS number*	61336-70-7	53-03-2
Molecular mass (g/mol)*	419.45	358.4
Hydrogen acceptor count*	6	5
Hydrogen donor count*	4	2
Polar surface area (Å^2)**	132.96	91.67
Heavy atom count*	28	26
Rotatable bound*	4	2
Number of rings**	3	4
Water solubility (mg/mL) at 25°C*	0.96	0.07754
LogP*	-2.3	1.46
Kinetic degradation profile	Zero order	Power law

*Estimated from Chemaxon®

**Estimated from DrugBank®.

Confidential: For Review Only

5. Discussion et conclusion

Le chapitre III est une introduction aux méthodologies semi prédictives de la stabilité des médicaments. La méthode proposée est traduite Étude Semi-Prédictive Accélérée (ESPA) de l'anglicisme Accelerated Stability Assessment Program (ASAP).

Les modalités de mise en place de l'ESPA sont décrites lors du Chapitre III - 2. Approche semi-prédictive : Étude Semi-Prédictive Accélérée (ESPA) et s'appuient sur des principes théoriques détaillés dans le Chapitre I et III. Après avoir fait subir au médicament différentes conditions de stress environnemental, l'expérimentateur va mesurer à des temps définis les ACQ choisis. Ces données générées vont être confrontées à une série de modèles mathématiques afin d'en choisir le plus pertinent et d'en définir les constantes. Enfin, ce modèle généré va être utilisé pour extrapoler les données sur une longue période et dans différentes conditions environnementales. Cette méthode permet d'obtenir rapidement des données extrapolables sur une longue durée, et apporte une série d'informations complémentaires.

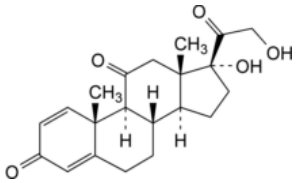
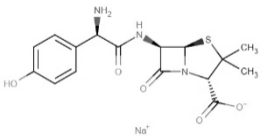
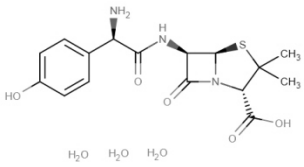
Cette méthode, introduite par Clancy et Al. en 2017, possède de nombreuses applications en développement pharmaceutique. Les applications intéressant les PUI sont :

- ✓ la rationalisation du choix d'un PA dans une formulation,
- ✓ l'évaluation du conditionnement,
- ✓ la compatibilité PA – excipient,
- ✓ l'investigation d'une déviation constatée lors des études de stabilité,
- ✓ la définition d'une conduite à tenir en cas d'excursion de température,
- ✓ la définition d'une durée de conservation,
- ✓ l'évaluation de changements de procédé de fabrication / de formulation.

Cette méthodologie est mise en place dans notre PUI et appliquée au cours de deux travaux présentés dans ce chapitre.

L'ESPA a permis de rationaliser le choix d'un principe actif dans le cadre du développement d'une forme orale d'amoxicilline 5 mg, et a permis d'établir une durée de conservation de deux formulations de prednisone dans le second travail.

Tableau 26 : descripteurs moléculaires, propriétés physiques, chimiques et mécanismes de dégradation en phase solide des 3 PA étudiés.

Paramètres physicochimiques	**Prednisone**	**AS**	**ATH**
Formule			
Numéro CAS	53-03-2	34642-77-8	61336-70-7
Masse moléculaire (g/mol)*	358,4	387,39	419,45
Nombre d'accepteurs d'hydrogène**	5	6	6
Nombre de donneurs d'hydrogène**	2	3	4
Surface polaire (Å^2)**	91,67	135,8	132,96
Nombre d'atomes lourds	26	26	28
Liaisons rotatoires	2	4	4
Nombre de noyaux**	4	3	3
Solubilité aqueuse (mg/mL) à 25°C*	0,07754	1,99	0,96
LogP*	1,46	-2,3	-2,3
Structure physique	Cristal	Cristal amorphe	Cristal orthorhombique
Profil cinétique de dégradation	Nucléation en puissance	Auto-catalyse / JMAEK	Ordre 0
Profil de sensibilité	Non défini	Humidité	Mixte

Les propriétés physiques, chimiques, les descripteurs moléculaires, les mécanismes de dégradations et les profils de sensibilité de chacun des trois principes actifs étudiés sont présentés Tableau 26. Dans cet échantillon, trois principes actifs aux propriétés très différentes sont comparés. Tout d'abord deux formes physiques d'une même molécule : un sel fortement soluble dans l'eau et un cristal très peu soluble en milieux aqueux. Le 3ème PA est un cristal

fortement insoluble dans l'eau. Très logiquement, la forme soluble possédant une forte appétence pour l'eau va absorber / adsorber l'humidité environnementale. Cette molécule ayant plusieurs sites d'hydrolyse dans la structure chimique subit une dégradation rapide induite par l'eau. Les deux autres PA sont beaucoup moins sensibles à l'action de l'humidité environnementale.

Les interactions physiques entre les trois PA et l'excipient majoritaire en formulation ont été investiguées. Il apparait que la CMC, choisie pour son inertie et son absence d'allergénicité, capte toutefois l'eau environnementale. Même si elle n'interagit pas directement physiquement ni chimiquement avec les PA, son « effet d'éponge » pourrait favoriser l'hydrolyse des PA sensibles. L'effet de rétention hydrique a été mis en évidence, mais la corrélation avec l'hydrolyse des PA n'a pu être que supposée.

Les environnements de stockage utilisés dans les études étaient différents. La prednisone était conservée dans les conditions de stockage ICH tandis que les deux formes d'amoxicilline, en plus des environnements ICH étaient conservées dans deux environnements permettant de dissocier les effets de l'humidité et de la température. Cette seconde configuration permet d'apporter de nombreuses informations complémentaires indispensables à la compréhension étiologique des mécanismes instabilités. Ainsi, des actions correctives ou préventives sont mises en œuvre dès les premiers signes d'altération. De plus, la modélisation mathématique de la cinétique réactionnelle est beaucoup plus fine. Cependant, pour prédire avec certitude une durée de stabilité pour un PA, il sera nécessaire de disposer d'environnements supplémentaires permettant (i) une gamme de températures croissantes à faible humidité, (ii) une gamme d'humidités croissantes à faible température et enfin (iii) une gamme de températures et humidités croissantes combinées. Alors, la modélisation sera très puissante.

Dans les deux travaux, les représentations mathématiques des cinétiques de dégradation des quatre formulations ont été réalisées avec succès. Ces modélisations apportent de nombreuses informations. Elles permettent la compréhension des mécanismes de dégradation des PA. Elles permettent également d'identifier et de prévenir les causes de dégradation en mettant en place par exemple un conditionnement en dessiccant ou à température réfrigérée. Enfin, les durées

de conservation selon les environnements choisis sont prédites en extrapolant les modèles générés. L'amélioration de la connaissance du produit en est significative.

Pour aller plus loin, lors du développement d'une forme orale sèche, une analyse des caractéristiques physicochimiques du PA, des descripteurs moléculaires, de la structure chimique de la molécule et des possibles voies de dégradation permettrait une meilleure anticipation de la sensibilité d'un PA à l'humidité. La présence d'un ou plusieurs sites d'hydrolyse dans la structure chimique couplée à une forte affinité pour l'eau seraient des arguments en faveur du conditionnement systématique dans un flacon avec dessiccant ou l'utilisation d'un excipient peu affin pour l'eau, comme le stéarate de magnésium. Ainsi, tout comme les PA sensibles à la lumière sont systématiquement conditionnés en flacons ambrés, les PA sensibles à l'humidité seraient également protégés systématiquement. Les bases de données publiques pourraient également faire mention d'une sensibilité à l'humidité de ces PA.

Ensuite, les études de stabilité pourraient être systématiquement réalisées dans les conditions ICH et dans les conditions ESPA, avec des temps d'analyse adaptés au profil de dégradation des PA formulés, comme présenté Tableau 27.

Tableau 27 : conditions de stockage et temps d'analyse pour un PA dont la cible de conservation serait la température ambiante.

Environnements de stockage	**Temps d'analyse**
25 ± 2°C / 60 ± 5 % HR	J0
25 ± 2 °C / 80 ± 5 % HR	J15
40 ± 2°C / 40 ± 5 % HR	J30
40 ± 2°C / 60 ± 5 % HR	M1
40 ± 2°C / 80 ± 5 % HR	M2
60 ± 2°C / 40 ± 5 % HR	M3
60 ± 2°C / 60 ± 5 % HR	Jusqu'à dégradation de 10 %

À ces environnements peuvent également être intégrés des conditions réfrigérées (ou congelées pour les formes liquides, le cas échéant), à adapter aux profils de principes actifs analysés.

De plus, à chaque étude de stabilité d'une formulation selon cette configuration, l'étude de stabilité du principe actif « pur » dans les environnements climatiques identiques permettrait de caractériser avec certitude le profil de sensibilité de la molécule. L'analyse comparative des profils cinétiques obtenus avec le PF versus le PA apporterait une compréhension de l'impact que peut avoir l'ensemble des éléments composant le médicament. Pour une gélule formulée avec de la cellulose par exemple, l'impact de la rétention d'eau par la cellulose, de la diffusion de l'eau à travers la gélatine composant la gélule et enfin celle à travers le plastique du conditionnement.

Enfin, ces résultats de modélisation de stabilité des PA et PF doivent alimenter la construction d'une base de données. Celle-ci doit intégrer toutes les informations pouvant avoir un impact dans le modèle de stabilité généré : caractéristiques intrinsèques d'une molécule, caractéristiques inhérentes à la formulation et contraintes extérieures. Par une approche intelligence artificielle, exploration de données et de métadonnées, il serait très probablement possible de dégager à terme une ou des caractéristiques chiffrables impactant la stabilité d'un PA et totalement prédictible.

6. Conclusions et perspectives

Le développement d'une préparation pharmaceutique hospitalière implique une analyse préliminaire de faisabilité et de risque, selon les BPP [67]. Cette analyse menée *a priori* par le pharmacien en charge du développement de la formulation doit notamment statuer sur le risque de non stabilité de la préparation. Ce risque est évalué par une analyse bibliographique. Ensuite, l'étude prospective de la stabilité d'une série de lots pilotes est assurée conformément aux guidelines de la CIH. Au cours de cette analyse, les lots sont conservés dans différentes conditions environnementales définies par une humidité relative et une température. Cette évaluation préliminaire est incontournable. Chronophage, coûteuse et nécessitant des équipements, elle n'est pas dénuée de risque d'échec en cas d'instabilité.

Prévenir ce type d'échec doit constituer un enjeu stratégique prioritaire pour toute structure en charge du développement d'une ou plusieurs formulations. La prévention passe notamment par l'évaluation *a priori* du risque d'instabilité du principe actif, en sa formulation, selon les conditions de conservation définies. Cette évaluation est assurée par une équipe affutée. La prévention du risque d'échec passerait également par la construction préliminaire d'un espace de qualité. Cet espace serait bâti à partir d'éléments prédictifs du comportement d'un principe actif dans une forme pharmaceutique. Il permettrait de cadrer les conditions dans lesquelles l'étude de stabilité doit être menée. Les fondations d'une méthode de construction d'un espace de qualité dans une approche QBD sont proposées dans ce manuscrit à travers trois chapitres.

Ce premier chapitre est un état de l'art. Il s'attache à présenter les principaux mécanismes cinétiques réactionnels, les équations cinétiques associées et les modélisations les représentants. Cette synthèse bibliographique met le lecteur en situation. Il introduit les modèles caractérisant les mécanismes des réactions physiques et chimiques de dégradation ainsi que l'impact des facteurs environnementaux de température et d'humidité. Ceci afin de construire une équation cinétique globale mesurant la vitesse de la majeure partie des réactions de décomposition chimique des principes actifs médicamenteux. Cette équation globale est exploitée au cours des chapitres II et III de ce manuscrit pour mesurer, caractériser et prédire la stabilité des médicaments.

Le second chapitre présente une méthodologie prédictive totale de la stabilité d'un PA déjà usitée dans la littérature, et son application à l'amélioration de la stabilité d'une formulation stérile injectable. Cette méthode consistait à utiliser les possibilités de la chimie computationnelle pour prédire totalement (i) les voies de dégradation chimique possibles d'une molécule, (ii) les produits de dégradations, (iii) la cinétique de chacune des voies, (iv) la cinétique globale de dégradation de la molécule, et (v) les conditions favorables de prévention de cette dégradation. Un exemple bibliographique est présenté au cours de ce chapitre. La dégradation d'une molécule proche de celle d'intérêt y est décortiquée. Les voies de dégradations favorables sont proposées. La vitesse de dégradation de la molécule est calculée et comparée à une vitesse mesurée. La corrélation est intéressante. Ainsi, cette méthodologie a été expérimentée dans notre laboratoire. Cependant, l'essai réalisé au cours de ce travail n'a pas été concluant. Le temps de calcul nécessaire au logiciel de chimie numérique pour traiter la problématique est très / trop long. Et ce malgré la collaboration avec une équipe ayant une expertise couplée au matériel informatique pouvant réaliser ce genre d'opération. En l'état de la technologie informatique, la durée de travail du logiciel n'est pas compatible avec les délais de développement des formulations. Cette approche pourrait être ré-envisagée à l'avenir.

Même si la prédiction totale de la stabilité de la formulation développée n'a pas pu être réalisée, le développement de la formulation d'amoxicilline injectable a été mené. La formulation et le mode de préparation proposé par notre équipe a permis d'augmenter la stabilité de la préparation de 6 heures à 30 heures, la rendant compatible avec l'utilisation clinique en APA. De plus, un remplissage anticipé des diffuseurs en conditions aseptiques sous atmosphère contrôlée permet de prévenir les risques de contamination microbiologiques. Par la suite, cette préparation sera évaluée lors d'une étude PK/PD de phase II. Malgré l'échec de la prédiction totale, la stabilité de la formulation finale sera évaluée selon une méthode semi prédictive présentée au cours du dernier chapitre.

Le chapitre III est une introduction aux méthodologies semi prédictives de la stabilité des médicaments : l'ESPA. Les modalités théoriques et pratiques de mise en place de l'ESPA y sont présentées. Ensuite, la méthodologie est appliquée avec succès lors du développement de deux formulations de notre PUI.

Cette méthodologie introduite cette dernière décennie promet de nombreuses applications intéressantes aux différentes étapes du développement pharmaceutique. Parmi les applications présentées dans ce manuscrit (i) la rationalisation du choix d'un principe actif dans une formule, ou (ii) la modélisation et prédiction de la stabilité d'une forme orale. En effet, la méthode ESPA a permis de modéliser et de prédire la stabilité d'une formulation orale de prednisone pour un essai clinique, à partir de données générées selon un plan expérimental CIH classique. De plus, l'ESPA a rationalisé le choix d'une source de PA amoxicilline dans une formulation de gélules orales. Le choix entre deux matières premières (*i.e* amoxicilline sodique ou amoxicilline trihydratée) a été arbitré en quelques semaines sur un critère de stabilité au long cours. De plus, une durée de conservation cible a été prédite, même si elle nécessite d'être affinée et consolidée.

Pour sécuriser et renforcer la modélisation, la méthode doit être consolidée. L'évaluation des effets de température et humidité dissociés et combinés est nécessaire à l'amélioration de la précision des modèles générés. La méthodologie en losange des conditions environnementales doit être appliquée. Cela implique un investissement dans les PUI. Il faut compléter les enceintes climatiques CIH classiques (25 °C 60 % HR ; 30 °C 65 % HR ; 40 °C 75 % HR) par des étuves dont la température et l'humidité sont programmables. La modélisation gagnerait fortement en précision. La méthodologie ESPA démontrerait toutes ses capacités. Elle serait également applicable en PUI afin de réaliser l'évaluation d'un conditionnement, la compatibilité PA – excipient, l'investigation d'une déviation constatée lors des études de stabilité, la définition de conduite à tenir en cas d'excursion de température et bien sûr la prédiction au long cours de la stabilité d'une formulation à partir de quelques points d'analyse générées en quelques semaines. Cette méthodologie sera systématiquement appliquée lors de la réalisation d'une étude de stabilité dans notre PUI.

De plus, à chaque étude de stabilité d'une formulation selon cette configuration, l'étude de stabilité du principe actif « pur » dans les environnements climatiques identiques permettrait de caractériser avec certitude le profil de sensibilité de la molécule. L'analyse comparative des profils cinétiques obtenus avec le PF versus le PA apporterait une compréhension quant à l'impact que peut avoir l'ensemble des éléments composants le médicament. Les résultats de ces études alimenteront une base de données les confrontant avec les propriétés des molécules

étudiées : descripteurs intramoléculaires, paramètres physiques et chimiques, sites de réactivité, et tout autre paramètre pertinent. Quelques années d'enrichissement d'une telle base combinées aux espérances de progrès informatiques, de traitement de données, de métadonnées et d'intelligence artificielle permettront probablement d'apporter une contribution significative au Saint-Graal des études de stabilité : la prédiction totale d'une durée de conservation d'une formulation selon les caractéristiques intrinsèques à la molécule, inhérentes au médicament et environnementales.

BIBLIOGRAPHIE

[1] B. P. Simmons, « CDC Guidelines for the Prevention and Control of Nosocomial Infections. Guideline for Prevention of Intravascular Infections », American Journal of Infection Control 11, no 5 (octobre 1983): 183-99. https://doi.org/10.1016/0196-6553(83)90079-2

[2] M. C. Allwood, « Practical Guides. I: Central Intravenous Additive Services », Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics 19, no 3 (juin 1994): 137-45. https://doi.org/10.1111/j.1365-2710.1994.tb00667.x

[3] J.-D. Hecq, « Centralized Intravenous Additive Services (CIVAS): The State of the Art in 2010 », Annales Pharmaceutiques Francaises 69, no 1 (janvier 2011): 30‑37, https://doi.org/10.1016/j.pharma.2010.09.002

[4] B. Delmon, « Introduction à la cinétique hétérogène », TECHNIP 1ère édition, 1969 695 p.

[5] J. Yang, B. J. McCoy, et G. Madras, « Kinetics of Nonisothermal Polymer Crystallization », The Journal of Physical Chemistry B 109, no 39 (octobre 2005): 18550-57, https://doi.org/10.1021/jp052219b

[6] A. K. Burnham, R. K. Weese, et B. L. Weeks, « A Distributed Activation Energy Model of Thermodynamically Inhibited Nucleation and Growth Reactions and Its Application to the β−δ Phase Transition of HMX », The Journal of Physical Chemistry B 108, no 50 (décembre 2004): 19432‑41, https://doi.org/10.1021/jp0483167

[7] S. Wang, Q. Gao, et J. Wang, « Thermodynamic Analysis of Decomposition of Thiourea and Thiourea Oxides », The Journal of Physical Chemistry B 109, no 36 (septembre 2005): 17281‑89, https://doi.org/10.1021/jp051620v

[8] C. Wu, P. Wang, X. Yao, C. Liu, D. Chen, G. Q. Lu, et H. Cheng, « Effects of SWNT and Metallic Catalyst on Hydrogen Absorption/Desorption Performance of MgH2 », The Journal of Physical Chemistry B 109, no 47 (décembre 2005): 22217-21, https://doi.org/10.1021/jp0545041

[9] V. K. Peterson, D. A. Neumann, et R. A. Livingston, « Hydration of Tricalcium and Dicalcium Silicate Mixtures Studied Using Quasielastic Neutron Scattering », The Journal of Physical Chemistry B 109, no 30 (1 août 2005): 14449-53, https://doi.org/10.1021/jp052147o.

[10] S. Bagdassarian, "Untitled" C. Acta Physicochim. U.S.S.R. 1945, 20, 441. Absence de DOI

[11] A. K. Galwey et M. E. Brown, « Thermal Decomposition of Ionic Solids: Chemical Properties and Reactivities of Ionic Crystalline Phases », Elsevier, 1ère édition, 1999, 597p.

[12] B. E. Bartlett, F. C. Tompkins, et D. A. Young, « Decomposition of Barium Azide », Nature 179, no 4555 (février 1957): 365-66, https://doi.org/10.1038/179365a0

[13] W. E. Garner et T. J. Jennings, « Nucleation phenomena arising during the dehydration of solid hydrates », Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences 224, no 1159 (juillet 1954): 460-71, https://doi.org/10.1098/rspa.1954.0173

[14] M. Avrami, « Kinetics of Phase Change. II Transformation-Time Relations for Random Distribution of Nuclei », Journal of Chemical Physics B (1 février 1940): 212-24, https://doi.org/10.1063/1.1750631

[15] B. V. Erofeev, « Generalized Equation of Kinetics and its Applications in Reactions Involving Solids », Compt Rend Acad Sci USSR, 1946, vol. 52, p. 511-514. Absence de DOI.

[16] W. Sha, X. Wu, et K. G. Keong, « 12 - Modelling the Thermodynamics and Kinetics of Crystallisation of Nickel–phosphorus (Ni–P) Deposits », Metals and Surface Engineering 2011, 183-217, https://doi.org/10.1533/9780857090966.2.183

[17] J. Málek, « Kinetic Analysis of Crystallization Processes in Amorphous Materials », Thermochimica Acta 355, no 1 (juillet 2000): 239-53, https://doi.org/10.1016/S0040-6031(00)00449-4

[18] M. E. Brown, « The Prout-Tompkins Rate Equation in Solid-State Kinetics », Thermochimica Acta, A Collection of Invited Papers in Celebration of Volume 300, 300, no 1 (octobre 1997): 93-106, https://doi.org/10.1016/S0040-6031(96)03119-X

[19] J. W. McGinity, « Drug Stability: Principles and Practices », Journal of Pharmaceutical Sciences 80, no 1 (janvier 1991): 98, https://doi.org/10.1002/jps.2600800127

[20] V. B. Okhotnikov et I. P. Babicheva, « Initial Stage in Isothermal Dehydration of Vermiculite Single Crystals in Vacuum », Reaction Kinetics and Catalysis Letters 37, no 2 (septembre 1988): 417-22, https://doi.org/10.1007/BF02062093

[21] M. C. Ball et M. J. Casson, « Dehydration of Calcium Hydrogen Phosphate Dihydrate », Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions 0, no 1 (1973): 34-37, https://doi.org/10.1039/DT9730000034

[22] J. B. Holt, I. B. Cutler, et M. E. Wadsworth, « Kinetics of the Thermal Dehydration of Hydrous Silicates », Clays and Clay Minerals 12, no 1 (1 février 1963): 55-67, https://doi.org/10.1346/CCMN.1963.0120109.

[23] W. Jander et Z. Anorg, « Reactions in Solid State at High Temperatures: I, Reaction Rates of Endothermic Reactions », Allgem. Chec, 1928, vol. 30. édition, sect. 163, 1. Absence de DOI.

[24] A. M. Ginstling et B. I. Brounshtein, « On Diffusion Kinetics In Chemical Reactions Taking Place In Spherical Powder Grains », Zhur. Priklad. Khim. Vol: 23 (décembre 1950), https://www.osti.gov/biblio/4407298

[25] P. Barret, R. de Hartoulari, et R. Perret, « Mechanism of 2/3-Order Reactions in Kinetics of Endothermic Reactions of Decomposition of Powders », Compt. Rend. 248, no 20 (1959): 2862-64.

[26] J. T. Carstensen, « Stability of Solids and Solid Dosage Forms », Journal of Pharmaceutical Sciences 63, no 1 (1974): 1-14, https://doi.org/10.1002/jps.2600630103.

[27] J. Hume, J. Colvin, et R. Whytlaw-Gray, « The decomposition of potassium hydrogen oxalate hemihydrate », Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character 125, no 799 (novembre 1929): 635-46, https://doi.org/10.1098/rspa.1929.0192

[28] W. D. Spencer et B. Topley, « CCCLIV.—Chemical kinetics of the system Ag 2 CO 3⇌ Ag 2 O+ CO 2 », Journal of the Chemical Society (Resumed), 1929, 2633-50. Absence de DOI.

[29] J. Šesták et G. Berggren, « Study of the Kinetics of the Mechanism of Solid-State Reactions at Increasing Temperatures », Thermochimica Acta 3, no 1 (octobre 1971): 1-12, https://doi.org/10.1016/0040-6031(71)85051-7

[30] S. Arrhenius, « On the rate of reaction of the inversion of sucrose by acids », Zeitschrift fuer physikalische Chemie 4 (1889): 226‑48. Absence de DOI.

[31] M. A. Zoglio, J. J. Windheuser, R. Vatti, H. V. Maulding, S. S. Kornblum, A. Jacobs et H. Hamot, « Linear Nonisothermal Stability Studies », Journal of Pharmaceutical Sciences 57, no 12 (1968): 2080‑85, https://doi.org/10.1002/jps.2600571211

[32] K. C. Waterman, A. J. Carella, M. J. Gumkowski, P. Lukulay, B. C. MacDonald, M. C. Roy et S. L. Shamblin , « Improved Protocol and Data Analysis for Accelerated Shelf-Life Estimation of Solid Dosage Forms », Pharmaceutical Research 24, no 4 (avril 2007): 780‑90, https://doi.org/10.1007/s11095-006-9201-4

[33] D. Clancy, N. Hodnett, R. Orr, M. Owen et J. Peterson, « Kinetic Model Development for Accelerated Stability Studies », American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech 18, no 4 (mai 2017): 1158‑76, https://doi.org/10.1208/s12249-016-0565-4

[34] T. Galpérine, F. Ader, P. Piriou, T. Judet, C. Perronne et L. Bernard, « Antibiothérapie parentérale ambulatoire (APA), par voie intraveineuse dans les infections ostéoarticulaires », Médecine et maladies infectieuses 36.3 (2006): 132-137. https://doi.org/10.1016/j.medmal.2006.01.002

[35] Haute Autorité de Santé, « Prothèse de hanche ou de genou : diagnostique et prise en charge de l'infection dans le mois suivant l'implantation », Page consulté le 12 avril 2018. Disponible sur : https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2014-03/rbp_argumentaire_prothese_infectees_vd_.pdf

[36] G. Binson, C. Grignon, G. Le Moal, P. Lazaro, J. Lelong, F. Roblot, N. Venisse et A. Dupuis, « Overcoming stability challenges during continuous intravenous administration of high-dose amoxicillin using portable elastomeric pumps », PLoS ONE 14, no 8 (août 2019), https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221391

[37] H. Eyring, « The Activated Complex in Chemical Reactions », The Journal of Chemical Physics 3, no 2 (février 1935): 107‑15, https://doi.org/10.1063/1.1749604

[38] F. Louis, C. A. Gonzalez, R. E. Huie et M. J. Kurylo, « An ab Initio Study of the Kinetics of the Reactions of Halomethanes with the Hydroxyl Radical. 1. CH2Br2 », The Journal of Physical Chemistry A 104, no 13 (avril 2000): 2931‑38, https://doi.org/10.1021/jp991022e

[39] H. Zhang, H. Xie, J. Chen et S. Zhang, « Prediction of Hydrolysis Pathways and Kinetics for Antibiotics under Environmental pH Conditions: A Quantum Chemical Study on Cephradine », Environmental Science & Technology 49, no 3 (février 2015): 1552‑58, https://doi.org/10.1021/es505383b

[40] « Enquête sur les usines d'antibiotiques indiennes, fabriques d'antibiorésistance », Le Monde.fr, article consulté le 10 décembre 2018, disponible sur : https://www.lemonde.fr/sciences/article/2018/12/10/les-usines-d-antibiotiques-indiennes-sont-des-fabriques-d-antibioresistance_5395476_1650684.html

[41] F. P. Pineda, J. Ortega-Castro, J. R. Alvarez-Idaboy, J. Frau, B. M. Cabrera, J. C. Ramírez, J. Donoso, et F. Muñoz, « Hydrolysis of a Chlorambucil Analogue. A DFT study. » The Journal of Physical Chemistry A, 2011, vol. 115, no 11, p. 2359-2366. https://doi.org/10.1021/jp111202p

[42] E. Nägele et R. Moritz. « Structure elucidation of degradation products of the antibiotic amoxicillin with ion trap MS n and accurate mass determination by ESI TOF ». Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2005, vol. 16, no 10, p. 1670-1676. https://doi.org/10.1016/j.jasms.2005.06.002

[43] V. Sautou, D. Brossard, V. Chedru-Legros, S. Crauste-Manciet, F. Lagarce, et P. Odou, « Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations. » (2013) SFPC et GERPAC, 75p.

[44] ICH Harmonised Tripartite Guideline : Stability testing of new drug substances and products Q1A(R2). Page consulté le 3 septembre 2020. Disponible sur : https://database.ich.org/sites/default/files/Q1A%28R2%29%20Guideline.pdf

[45] Ph. Hubert, J.-J. Nguyen-Huu, B. Boulanger, E. Chapuzet, P. Chiap, N. Cohen, P.-A. Compagnon, W. Dewé, M. Feinberg, M. Lallier, M. Laurentie, N. Mercier, G. Muzard, C.Nivet, L.Valat et E. Rozet, « Harmonization of Strategies for the Validation of Quantitative Analytical Procedures. A SFSTP Proposal--Part II. », Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 45, no 1 (septembre 2007): 70‑81, https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.06.013

[46] A. T. Florence et D. Attwood, Physicochemical Principles of Pharmacy, Pharmaceutical press London, 6th edition, 2016, 664p.

[47] D. Wang et R. E. Notari, « Cefuroxime Hydrolysis Kinetics and Stability Predictions in Aqueous Solution », Journal of Pharmaceutical Sciences 83, no 4 (avril 1994): 577‑81. https://doi.org/10.1002/jps.2600830427

[48] S. Feng, N. Shan et K. J. Carpenter, « Crystallization of Amoxicillin Trihydrate in the Presence of Degradation Products », Organic Process Research & Development 10, no 6 (novembre 2006): 1212‑18, https://doi.org/10.1021/op060078l

[49] M. Hentzien, D. Lambert, A. Limelette, Y. N'Guyen, A. Robbins, D. Lebrun, R. Jaussaud et F. Bani-Sadr, « Macroscopic Amoxicillin Crystalluria », The Lancet 385, no 9984 (juin 2015): 2296, https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)62001-8

[50] P.J. Sheskey, W. G. Cook et C. G. Cable, « Handbook of pharmaceutical excipients », Pharmaceutical press London, 8th edition, 2009, 1064p.

[51] F. Castro-Gómez, G. Salassa, A. W. Kleij et C. Bo, « A DFT Study on the Mechanism of the Cycloaddition Reaction of CO2 to Epoxides Catalyzed by Zn(Salphen) Complexes », Chemistry – A European Journal 19, no 20 (mai 2013): 6289‑98, https://doi.org/10.1002/chem.201203985

[52] L. Xu, W. Li, P. Désesquelles, N. T. Van-Oanh, S. Thomas, et J. Yang, « A Statistical Model and DFT Study of the Fragmentation Mechanisms of Metronidazole by Advanced Oxidation Processes », The Journal of Physical Chemistry A 123, no 4 (janvier 2019): 933‑42, https://doi.org/10.1021/acs.jpca.8b10554

[53] K. C. Waterman et R. C. Adami, « Accelerated Aging: Prediction of Chemical Stability of Pharmaceuticals », International Journal of Pharmaceutics 293, no 1 (avril 2005): 101‑25, https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.12.013

[54] K. C. Waterman, « The Application of the Accelerated Stability Assessment Program (ASAP) to Quality by Design (QbD) for Drug Product Stability », AAPS PharmSciTech 12, no 3 (septembre 2011): 932‑37, https://doi.org/10.1208/s12249-011-9657-3

[55] A. Huttner, J. Bielicki, M. N. Clements, N. Frimodt-Moller, A. E. Muller, J-P. Paccaud et J-W. Mouton, « Oral Amoxicillin and Amoxicillin-Clavulanate: Properties, Indications, and Usage », Clinical Microbiology and Infection 25, no 12 (4 décembre 2019): 1552, https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.11.028

[56] E. S. Shenoy, E. Macy, T. Rowe et K.G. Blumenthal, « Evaluation and Management of Penicillin Allergy: A Review », Journal of American Medical Association 321, no 2 (janvier 2019): 188‑99, https://doi.org/10.1001/jama.2018.19283

[57] C. Ponvert, Y. Perrin, A. Bados-Albiero, M. Le Bourgeois, C. Karila, C. Delacourt, P. Schienmann et J. De Blic, « Allergy to Betalactam Antibiotics in Children: Results of a 20-Year Study Based on Clinical History, Skin and Challenge Tests », Pediatric Allergy and Immunology 22, no 4 (mars 2011): 411‑18, https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2011.01169

[58] K. C. Waterman, L. Chen, B. C. MacDonald, A. P. Monahan et G. Scrivens, « Modeling of in-use stability for tablets and powders in bottles », Drug Development and Industrial Pharmacy 42, no 10 (octobre 2016): 1571‑78, https://doi.org/10.3109/03639045.2016.1153648

[59] « Accelerated Predictive Stability (APS): Theory and fundamentals of accelerated predictive stability studies », Elsevier 2018. 1st Edition », G. Scrivens, D. Clancy et J. Gerst, Elsevier 2018.

[60] « Arrêté du 27 juillet 2016 fixant la liste des classes thérapeutiques contenant des médicaments d'intérêt thérapeutique majeur mentionnés à l'article L. 5121-31 du code de la santé publique » Page consulté le 3 septembre 2020. Disponible sur : https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000032958454/

[61] D. Leonardi et C. J. Salomon, « Influence of water uptake, gel network, and disintegration time on prednisone release from encapsulated solid dispersions », Pharmaceutical Development and Technology 15, no 2 (avril 2010): 184‑91, https://doi.org/10.3109/10837450903085434

[62] J. Q. Rose, A. M. Urchak, W. J. Nsko et D. Powel, « Bioavailability and Disposition of Prednisone and Prednisolone from Prednisone Tablets », Biopharmaceutics & Drug Disposition 1, no 5 (1980): 247‑58, https://doi.org/10.1002/bdd.2510010504

[63] J. Abraham, « International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use », in Handbook of Transnational Economic Governance Regimes, éd. par Christian Tietje et Alan Brouder (Brill | Nijhoff, 2010), https://doi.org/10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897

[64] S. Ardizzone, F.S. Dioguardi, T. Mussini, P. R. Mussini, S. Rondinini, B. Vercelli et A. Vertova, « Microcrystalline cellulose powders: structure, surface features and water sorption capability. » *Cellulose* **6,** 57–69 (1999). https://doi.org/10.1023/A:1009204309120

[65] K. Awa, H. Shinzawa et Y. Ozaki, « The Effect of Microcrystalline Cellulose Crystallinity on the Hydrophilic Property of Tablets and the Hydrolysis of Acetylsalicylic Acid as Active Pharmaceutical Ingredient Inside Tablets », American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech 16, no 4 (août 2015): 865‑70, https://doi.org/10.1208/s12249-014-0276-7

[66] M. Landín, R. Martínez-Pacheco, J. L. Gómez-Amoza, C. Souto, A. Concheiro et R. C. Rowe, « Influence of Microcrystalline Cellulose Source and Batch Variation on the Tabletting Behaviour and Stability of Prednisone Formulations », International Journal of Pharmaceutics 91, no 2 (avril 1993): 143‑49, https://doi.org/10.1016/0378-5173(93)90333-B

[67] Bonnes Pratiques de Préparation, Ministère de la Santé, de la Jeunesse et des sports, AFSSAPS, Paris, 2008. Page consultée le 25 mai 2020. Disponible sur : https://www.ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/a5d6ae4b3d5fdee013ca463462b7b296.pdf